

1 Resumen

Las suturas sintéticas reabsorbibles son una de las dos aplicaciones más importantes de los polímeros biodegradables en Medicina y Farmacia. Cuando una sutura se emplea en un acto quirúrgico para unir tejidos o para cerrar una herida, existe un riesgo importante de infección microbiana. Hospitales, centros sanitarios y fabricantes de material biomédico llevan a cabo una serie de estrategias a fin de minimizar los gastos monetarios, y los riesgos para los pacientes, originados en infecciones provocadas por microorganismos

En la primera parte de este Proyecto Final de Carrera se estudia el comportamiento de una sutura reabsorbible comercial [poli(dioxanona), Monoplus[®]] a la que se le incorpora Triclosan, un fármaco antibacteriano. La carga del fármaco en el hilo se lleva a cabo por dos procedimientos distintos: difusión hacia su interior y en un recubrimiento externo. En ambos casos, el hilo se sumerge en un baño que contiene el antimicrobiano y en el que puede estar o no, el material usado como recubrimiento. El tiempo de inmersión del hilo en el baño es otra variable usada para modificar la carga del hilo.

La liberación del antimicrobiano desde el hilo y hacia un medio más o menos hidrófilo se siguió mediante detección y cuantificación, por cromatografía HPLC, del Triclosan que pasa al medio acuoso. Se han elaborado varias curvas representando la cantidad de fármaco liberada en función de la carga del hilo y del tiempo de contacto hilo-medio. Los valores representados en estas curvas se han ajustado comparativamente a varios modelos utilizados en Farmacia galénica para cuantificar la cantidad de sustancia liberada por una matriz polimérica. Puesto que el proceso previo de carga en el interior del hilo se efectúa también por difusión, hemos aplicado asimismo las ecuaciones citadas para constatar que el proceso de carga de la matriz y su liberación posterior no siguen la misma ecuación modelo.

Los resultados que hemos obtenido ponen de manifiesto que la incorporación de triclosan en el recubrimiento del hilo es el procedimiento más rápido y simple de realizar a nivel industrial. Una característica en principio secundaria, pero no despreciable, de un compuesto que se introduce en el interior de un objeto polimérico es que modifica las propiedades y el comportamiento del material en el que se ha incluido. Por ejemplo, un fármaco con carácter ácido ó básico modifica el perfil de degradación del poliéster con el que se ha elaborado el hilo para suturar. En consecuencia, puede afectar a la velocidad de degradación y a la de reabsorción del hilo, que son parámetros fundamentales para su empleo por el cirujano.

En la segunda parte de este trabajo se ha efectuado un estudio preliminar del potencial de dos fármacos ácidos y de un colorante básico para influir en la degradación de la sutura. Uno de los fármacos estudiados ha sido el Triclosan, cuya liberación se ha estudiado en la



primera parte del PFC. El Triclosan es un compuesto con un grupo fenol; por tanto es un ácido muy débil. El segundo fármaco estudiado es el Ibuprofeno, un antiinflamatorio con un grupo carboxilo, y por tanto con carácter ácido débil. Por último, el fabricante del hilo incorpora un colorante violeta a la sutura para facilitar la labor del cirujano. Este colorante tiene carácter básico y por ello es un catalizador en la ruptura de los enlaces éster del hilo.

La metodología utilizada ha sido seguir el cambio de propiedades (masa, peso molecular, espectroscópicas, térmicas) de hilos de poli(p-dioxanona) que contienen alguno de los tres compuestos anteriormente citados y que han sido sumergidos en medios que imitan la composición del fluido intercelular. En cuanto a resultados, indicar a modo de ejemplo que hallamos que la degradación de los hilos sin, y con alguno de los compuestos citados, no es idéntica. El compuesto que ejerce mayor influencia es el ibuprofeno.



2 Sumario

1	RESUMEN.....	1
2	SUMARIO	3
3	INTRODUCCIÓN	6
3.1.	OBJETIVOS DEL PROYECTO	6
3.2.	ALCANCE Y ESTRUCTURA DEL PROYECTO	8
3.3.	ANTECEDENTES	9
4	POLÍMEROS BIOMÉDICOS.....	10
4.1.	INTRODUCCIÓN	10
4.2.	CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA QUÍMICA	10
4.3.	POLI(P-DIOXANONA)	15
4.3.1.	<i>Síntesis</i>	16
4.3.2.	<i>Propiedades</i>	17
4.3.3.	<i>Degradación</i>	20
4.4.	BIOMATERIALES E INFECCIONES	23
4.6.	<i>El efecto de la adición de un fármaco en biomateriales.</i>	27
5	INCORPORACIÓN DE TRICLOSAN	30
5.1.	CARGA DE FÁRMACO EN LAS SUTURAS.....	30
5.1.1.	<i>Determinación de Triclosan por HPLC</i>	34
5.1.2.	<i>Determinación de la carga de TCS en los hilos</i>	35
6	LIBERACIÓN CONTROLADA EN TAMPÓN FOSTATO	38
6.1.	HILOS CARGADOS EN BAÑOS AL 2% DE TRICLOSAN <i>w/v</i>	38
6.2.	HILOS CARGADOS EN BAÑOS AL 5% DE TRICLOSAN <i>w/v</i>	41
6.3.	HILOS CARGADOS EN BAÑOS AL 10% DE TRICLOSAN <i>w/v</i>	44
6.3.1.	<i>Suturas sin lavar</i>	48
6.4.	HILOS CON TCS EN UN RECUBRIMIENTO AL 3% <i>w/v</i>	50
6.4.1.	<i>Recubrimientos de Policaprolactona</i>	50
6.4.2.	<i>Recubrimiento de Policaprolactona / Estearato de Magnesio</i>	52
7	CINÉTICAS DE CARGA Y LIBERACIÓN CONTROLADA	56
7.1.	CINÉTICAS DE INCORPORACIÓN DE FÁRMACO AL HILO	59
7.2.	CINÉTICAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACO DESDE EL HILO	61
8	ANÁLISIS DE LA DEGRADACIÓN HIDROLÍTICA <i>IN VITRO</i>	64
8.1.	DETERMINACIÓN DE PÉRDIDA DE PESO	66
8.2.	DESCENSO DE pH.....	69



8.3.	DISMINUCIÓN DE PESOS MOLECULARES (GPC)	71
8.4.	CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).....	74
8.4.1.	<i>Análisis de termogramas</i>	74
9	IMPACTO AMBIENTAL	84
9.1.	IMPACTO AMBIENTAL DE LOS POLÍMEROS	84
9.2.	IMPACTO AMBIENTAL DE LA REALIZACIÓN DEL PROYECTO	84
9.2.1.	<i>Ensayos con polímeros</i>	85
9.2.2.	<i>Equipos y material diverso</i>	85
9.2.3.	<i>Servicios generales</i>	85
10	EVALUACIÓN ECONÓMICA DEL PROYECTO	87
10.1.	COSTE DE MATERIALES Y PRODUCTOS	87
10.2.	COSTE DE PERSONAL.....	88
10.3.	COSTE DE EQUIPOS.....	88
10.4.	COSTE TOTAL DEL PROYECTO.....	89
11	CONCLUSIONES	90
	FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	92
12	AGRADECIMIENTOS	94
13	BIBLIOGRAFIA	95
13.1.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
13.2.	BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA	97





3 Introducción

3.1. Objetivos del proyecto

La realización del presente Proyecto fin de Carrera se enmarca dentro de la línea de polímeros biodegradables que existe en el Departamento de Ingeniería Química de la UPC. Desde hace algunos años, el Dpto. mantiene un acuerdo de colaboración con la empresa BBraun Surgical. Fruto de este convenio es el desarrollo de trabajos de investigación relacionados con los hilos de sutura quirúrgicos.

Dos de las aplicaciones más interesantes de los polímeros biodegradables son: 1) las suturas quirúrgicas y 2) la liberación controlada de fármacos. En este proyecto pretendemos aunar ambas aplicaciones estudiando el potencial de una sutura comercial en la liberación controlada de una sustancia antibacteriana.

Es bien conocido que el uso de biomateriales, entre ellos las suturas quirúrgicas, va asociado a un cierto riesgo de infecciones. Para combatir y prevenir estas infecciones el sistema sanitario realiza una serie de protocolos y tratamientos que tienen un coste no despreciable en sus presupuestos. Es por ello que los fabricantes de materiales quirúrgicos están implicados en el desarrollo de materiales con un bajo riesgo de infección que ellos denominan “biomateriales antiinfecciosos o antimicrobianos”.

En este Proyecto usaremos suturas comerciales de poli(p-dioxanona), un polímero reabsorbible empleado para el cosido de tejidos y órganos internos. Una característica importante de la poli(p-dioxanona) es que es una sutura de las denominadas “monofilar” o “monofilamento”.

Las suturas *multifilamento* están formadas por múltiples fibras trenzadas ó torsionadas que proporciona al hilo una adecuada flexibilidad y una gran facilidad de manipulación por el cirujano. Sin embargo, sus irregularidades superficiales suelen provocar el denominado ‘efecto sierra’ o arrastre de tejidos al atravesar órganos delicados. Asimismo, en su uso existe un no despreciable riesgo de infección debido a la facilidad que tienen las bacterias para alojarse en los pequeños huecos existentes entre las fibras de la superficie del hilo. La tendencia actual es la utilización de suturas *monofilamento*, constituidas por un único hilo y que se consideran más cercanas al modelo de “sutura ideal” (descrito en *anexo A*). Las suturas monofilares generalmente no presentan “efecto sierra”, tampoco tienen la capilaridad de las trenzadas, y esta carencia reduce el riesgo de proliferación bacteriana en una herida infectada. Sin embargo, son menos flexibles y difíciles de anudar por el cirujano.



El objetivo general de este Proyecto Fin de Carrera es el desarrollo de hilos de sutura monofilares cargados con un antibacteriano. La novedad introducida en este trabajo es que la poli(p-dioxanona), por ser monofilar, se comercializa sin recubrimiento.

En consecuencia, hemos comenzado por incorporar el fármaco en el interior del propio hilo, pero también hemos explorado la posibilidad de recubrirlo, y que sea en este caso el recubrimiento el que contenga el antibacteriano. En la segunda alternativa, se han probado varias posibilidades dado que el hilo no tiene en su superficie huecos físicos, pequeñas grietas en las que pueda penetrar y adherirse físicamente el recubrimiento que contiene el compuesto activo.

Para completar este trabajo hemos estudiado también el efecto que ejercen dos fármacos con carácter ácido, el Triclosan y el Ibuprofeno, en la biodegradación de los hilos de poli(p-dioxanona). Es bien sabido que los compuestos ácidos son catalizadores de la hidrólisis de los polímeros que se degradan por ruptura de sus enlaces éster.

Los objetivos concretos a desarrollar son los siguientes:

- Carga del antibacteriano Triclosan en la matriz del hilo monofilar por difusión.
- Determinación cuantitativa del fármaco contenido en el hilo.
- Obtención de las curvas de liberación del fármaco en dos medios distintos.
- Determinación de las cinéticas de carga y liberación del Triclosan.

- Carga del antibacteriano en tres recubrimientos del hilo monofilar.
- Obtención de las curvas de liberación del fármaco en dos medios distintos.
- Comparación del contenido y la liberación del Triclosan cuando se carga en la matriz del hilo y cuando lo hace en el recubrimiento.

- Estudio de la acción catalítica de dos fármacos, Triclosan e Ibuprofeno, en la biodegradación de un hilo de sutura reabsorbible.
- Posible influencia del colorante químico violeta cristal en la degradación del biopolímero.



3.2. Alcance y estructura del proyecto

Este Proyecto es un trabajo de carácter mayoritariamente experimental realizado en el laboratorio y que se caracteriza por la variedad de técnicas empleadas, circunstancia que sin duda revertirá en la formación completa del alumno.

Para su realización se llevó a cabo previamente una búsqueda de documentación científica sobre polímeros de uso en medicina y farmacia con especial énfasis en la obtención de documentación sobre aspectos químicos y estructurales de las suturas quirúrgicas.

En cuanto a la realización del Proyecto, se inició con un trabajo manual y meticuloso donde, con ingenio, se idearon diversas vías para incorporar triclosan a una sutura monofilar. A continuación se hizo un amplio uso de una técnica típica para la detección y cuantificación de fármacos como es la cromatografía líquida (HPLC). También se ha realizado un trabajo teórico de cálculo y comparación de los resultados que se obtienen al aplicar diversos modelos cinéticos a los datos de liberación del fármaco desde la sutura.

En la parte final del trabajo se han usado técnicas habituales de caracterización de polímeros: medidas de pesos moleculares por Cromatografía de Gel (GPC) y análisis térmico mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Las espectroscopias de IR y RMN no pudieron realizarse por problemas técnicos del departamento.

El Proyecto se ha estructurado en 2 volúmenes:

- **Memoria.** Descripción detallada del trabajo realizado en la que se incluyen objetivos y conclusiones.
- **Anexo:**
 - **A: Materiales y métodos.** Descripción de los procesos que se han utilizado durante el Proyecto, así como de los materiales empleados.
 - **B: Polímeros biodegradables en Medicina.** Breve introducción a los polímeros y a la importancia que ha ido adquiriendo en los últimos años el uso de polímeros biodegradables en el campo de la medicina.



3.3. Antecedentes

Como se comentó anteriormente, el convenio Dpto. Ingeniería Química/UPC con BBraun es una vía de colaboración que facilita la producción de un conjunto de trabajos relacionados con las suturas quirúrgicas. En el año en curso, 2007, han presentado su PFC Mireia Rifé, que realizó un estudio sobre los copolímeros de poli(p-dioxanona)/poliglicólico y Mireia Casanovas, que estudió la cristalización de un poliéster derivado de ácido glicólico y ácido 4-hidroxibutírico.

Más próxima a la temática de este proyecto se encuentra una parte de la Tesis Doctoral de Raül Zurita, de próxima defensa. Con ella se inició y se ha consolidado en el Dpto. una línea de trabajo sobre suturas. En dos publicaciones científicas recientes se exponen los resultados obtenidos en la Tesis al utilizar suturas como matrices liberadores de fármacos.

La primera publicación **[1]** trata sobre el diseño y preparación química de un copolímero de lactida, ϵ -caprolactona, y trimetilencarbonato, de composición 10:60:30, con propiedades adecuadas para ser empleado como recubrimiento de un hilo de sutura. El antibacteriano Triclosan es añadido al copolímero y, con él se preparan recubrimientos en un hilo de poliglicólico multifilar. La liberación del antibacteriano es seguida por HPLC en varios medios y se evalúa la influencia de la temperatura, el diámetro del hilo y la concentración de antibacteriano. También prepararon recubrimiento sin fármaco y, una vez seco éste, se incorporó triclosan a la superficie de la sutura trenzada al sumergirla en un baño de acetato de etilo a distintos porcentajes de droga. Los resultados obtenidos indican que en medios hidrofílicos como el Sørensen (además de otros medios) el proceso de liberación no es total, sino que se detiene al alcanzar un estado de equilibrio.

En una segunda publicación **[2]** se incorpora Ibuprofeno, un antiinflamatorio, en el interior de hilos de poli(dioxanona) monofilar USP 1 mediante un proceso de difusión. Se sigue su liberación en medio Sørensen y se determinan las cinéticas tanto en el proceso de carga como en el de liberación. También se incorpora Ibuprofeno en el recubrimiento de una sutura de poliglicólico multifilar. Para ello se utiliza el recubrimiento a base del copolímero PLA/PCA/PTMC 10/60/30 desarrollado en el trabajo anterior.

Un ejemplo fehaciente de la actualidad de esta temática es que la empresa multinacional Johnson & Johnson, primera firma mundial en el campo de las suturas, ha comercializado un hilo multifilar, (Vicryl Plus®), constituido por un copolímero a base de 90% de glicolida y 10% de lactida que lleva un recubrimiento en el que se ha incluido el antimicrobiano Triclosan.



4 Polímeros biomédicos

4.1. Introducción

La mayoría de los polímeros sintéticos biodegradables contienen enlaces hidrolizables a lo largo de la cadena, los enlaces más frecuentes son del tipo **éster, amida, anhídrido o uretano** (Figura 4.1). Estos enlaces son susceptibles de hidrólisis, reacción en la que pueden tomar parte microorganismos y enzimas hidrolíticos. Muchos enzimas proteolíticos catalizan específicamente la hidrólisis de los enlaces peptídicos adyacentes a grupos sustituyentes. Se ha encontrado que para mejorar la acción de los enzimas, es conveniente que existan grupos laterales, como los **benzílico, fenílico, hidroxílico y carboxílico**, que pueden mejorar notablemente la biodegradabilidad.

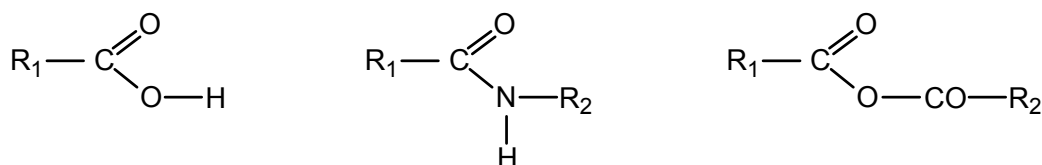


Figura 4.1. Enlaces hidrolizables tipo éster, amida, y uretano.

Ya que las reacciones catalizadas por enzimas tienen lugar en medios acuosos, el carácter hidrofílico-hidrofóbico del polímero afecta a la biodegradabilidad considerablemente. Los estudios realizados indican que ésta aumenta en los polímeros que contienen ambos tipos de segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos respecto a aquellos en los que predomina claramente un único tipo. La flexibilidad de la cadena polimérica para poder adaptarse al centro activo del enzima es otro factor, relacionado con la constitución química, que afecta a la biodegradabilidad.

4.2. Clasificación y estructura química

Los polímeros biodegradables presentan en su estructura grupos reactivos (generalmente enlaces éster o amida) de manera que en contacto con medios acuosos sufren una progresiva hidrólisis, habitualmente química, con el consiguiente fraccionamiento de las macromoléculas hasta dar lugar a moléculas de pequeño tamaño endógenas y/o hidrosolubles.

En la siguiente tabla se clasifican los polímeros biodegradables que sirven de materia prima para las suturas comerciales que encontramos en el mercado actual. Aunque el



Proyecto Final de Carrera se centre en el análisis de la poli(p-dioxanona), este tipo de estudios podría extenderse a otras clases de suturas.

Polímeros Biodegradables	FAMILIA	Ejemplo
Poliésteres alifáticos	Poli(α -hidroxiácidos)	Poli(ácido glicólico) Poli(ácido láctico)
	Polidioxanona	
	Poli(ϵ -caprolactona)	
	Poliésteres microbiales	Poli(ácido 3-hidroxiбутírico)
Poliámidas	Poli(α -aminoácidos)	
Poliesteramidas	Polidepsipéptidos	

Tabla 4.1. Familias más significativas de polímeros biodegradables

Los **POLIÉSTERES** (figura 4.2.) constituyen el grupo de polímeros más extensamente estudiados en cuanto a la degradación enzimática. De este modo, se ha demostrado que los *poliésteres alifáticos*, con una cadena flexible, son más fácilmente degradados en sistemas biológicos que, por ejemplo, el polietilentereftalato, que dispone de una cadena más rígida debido a la presencia del grupo aromático.

Polyester	Repeating unit
Poly(glycolic acid)	
Poly(L-lactic acid)	
Poly(DL-lactic acid)	
Poly(p-dioxanone)	
Poly(epsilon-caprolactone)	
Poly(3-hydroxypropionic acid)	
Poly(3-hydroxybutyric acid)	

Figura 4.2. Principales poliésteres biodegradables sintetizados por polimerización de lactonas por apertura de anillo.



Poliglicólico (PGA) ($-[OCH_2CO]_n-$): es el poliéster alifático lineal más simple. Fue utilizado para desarrollar la primera sutura sintética totalmente absorbible y se comercializó como DEXON® en los años 60 por Davis & Geck, Inc. (Danbury, CT). Mediante un proceso de dimerización del ácido glicólico se sintetiza el monómero cíclico, el cual por polimerización de apertura de anillo (figura 4.3), produce un material de alto peso molecular ($20.000 < M_n < 140.000$) y con un porcentaje de 1-3% de monómero residual. El polímero resultante se puede extrusionar y se caracteriza por una elevada cristalinidad (45-55%), un alto punto de fusión ($220-225^\circ\text{C}$) y una temperatura de transición vítrea de $35-40^\circ\text{C}$. Tiene el inconveniente de no ser soluble prácticamente en ningún disolvente orgánico, a excepción de algún organofluorados como el hexafluoroisopropanol.

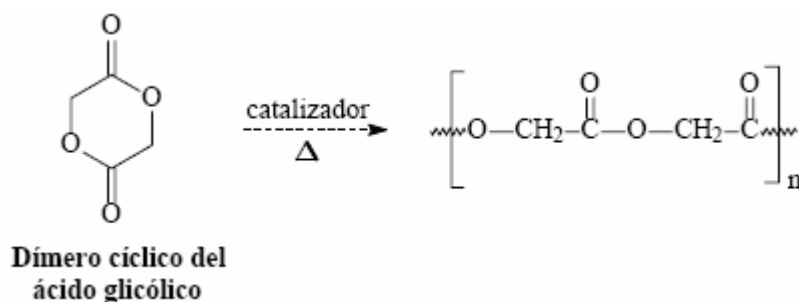


Figura 4.3. Síntesis del poliglicólico (PGA) a partir de glicolida.

Las fibras obtenidas a partir de PGA tienen un elevado módulo de Young y resistencia. Su rigidez dificulta su uso para suturas, excepto cuando se emplea como material trenzado. Las suturas de PGA pierden alrededor del 50% de su resistencia después de 2 semanas, el 100% en 1 mes, y son completamente absorbidas en 4-6 meses. El poliglicólico ha sido copolimerizado con otros monómeros para reducir la rigidez de sus fibras.

Poliláctico (PLA) ($-[OC_2H_4CO]_n-$): se obtiene mediante polimerización por apertura de anillo del dímero cíclico del ácido láctico denominado lactida (figura 4.4). El monómero tiene un carbono asimétrico por lo que es factible preparar polímeros con diferentes tacticidades. El homopolímero derivado del monómero natural, L-láctico (L-PLA), presenta un elevado grado de cristalinidad (37%) debido a su estereoregularidad. El material tiene alta resistencia a la tensión y baja elongación, y consecuentemente tiene un módulo de Young elevado. El polímero es muy adecuado para aplicaciones que tienen que soportar una carga como son las suturas y fijaciones ortopédicas. Sus características térmicas están definidas por un elevado punto de fusión ($175-178^\circ\text{C}$) y una temperatura de transición vítrea de $60-65^\circ\text{C}$.



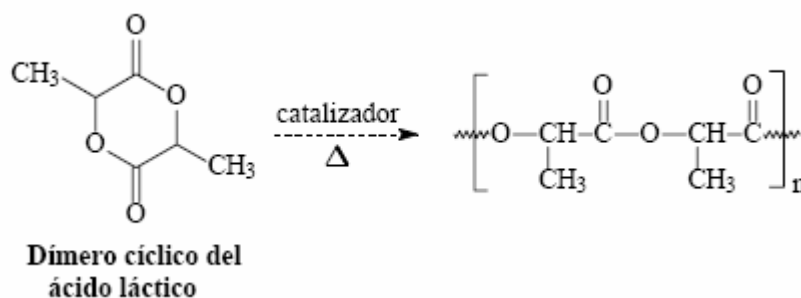


Figura 4.4. Síntesis del poliláctico (PLA) a partir de lactida.

El **D,L-poliláctico** es un polímero amorfo, ya que está constituido por las dos formas isoméricas (D y L) del ácido láctico. En este caso, el polímero tiene baja resistencia a la tensión, alta elongación, y una elevada velocidad de degradación que hace que sea un material muy atractivo para los sistemas de liberación de fármacos. Se preparan también copolímeros de L-PLA y D,L-PLA para disminuir la cristalinidad del polímero quiral y acelerar el proceso de degradación.

Poli(láctico-co-glicólico) (PLAGA): se han desarrollado copolímeros de glicólico con L-láctico y D,L-láctico para la liberación de fármacos. Por ejemplo, un copolímero con 50% de glicólico y 50% de D,L-láctico se degrada más rápidamente que sus homopolímeros puros. El copolímero más importante presenta un 90% de glicólico y un 10% de L-láctico y es desarrollado por Ethicon como sutura absorbible con el nombre de VICRYL®.

Los polímeros poliláctico, poliglicólico y los copolímeros de ambos están aceptados para su utilización en humanos por la Food and Drug Administration (FDA) y se conocen con las siglas PLA, PGA y PLAGA respectivamente. Se trata de materiales de una amplia utilización (implantes, suturas, etc.). Además, la experiencia ha demostrado que son biocompatibles y eliminados del organismo con facilidad.

La **poli(p-dioxanona) (PDO)** $(-[O(CH_2)_2OCH_2CO]_n-)$ es un poli(éster-éter) que por su especial relevancia en este trabajo, tiene un tratamiento más amplio en el apartado 4.4.

Policaprolactona (PCL) $(-[O(CH_2)_5CO]_n-)$: se prepara mediante la polimerización por apertura de anillo de la ϵ -caprolactona (figura 4.5). El polímero es semicristalino, presenta un punto de fusión muy bajo, 59-64°C y una Tg de -60°C. Se comporta como material biocompatible y puede ser utilizado como sutura biodegradable. Debido a que la PCL tiene un intervalo de degradación elevado (del orden de 2 años) y un bajo punto de fusión es habitual utilizarlo en forma de copolímero. Mediante copolimerización con D,L-láctico se consigue aumentar la velocidad de bioabsorción. También se utilizan copolímeros en bloque



de PCL-co-PGA (MONOCRYL[®]), por ofrecer una menor rigidez comparado con el homopolímero PGA puro.

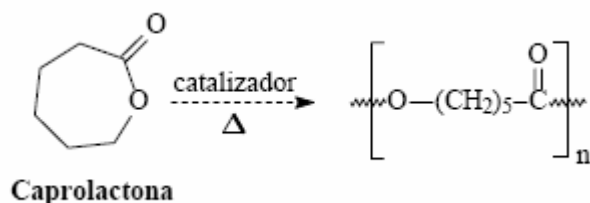


Figura 4.5. Síntesis de la policaprolactona (PCL).

El **politrimetilencarbonato** es el quinto monómero cíclico de lactona (figura 4.6), y no se utiliza solo, sino combinado con los 4 monómeros anteriores para fabricar algunas de las actuales suturas sintéticas absorbibles:

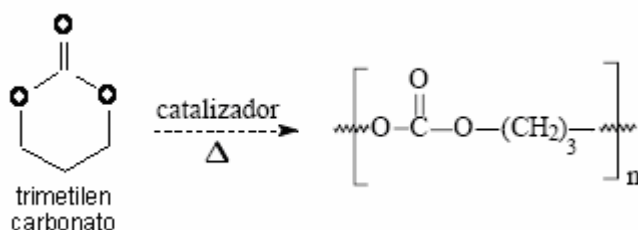


Figura 4.6. Síntesis de politrimetilencarbonato (TMC).

Las **POLIAMIDAS** (nylons), constituían un grupo de polímeros atrayentes para su uso como materiales biodegradables. En primer lugar, porque contienen nitrógeno, un elemento necesario para el crecimiento de los microorganismos y, en segundo lugar, por la presencia de grupos amida o peptídico (CO-NH). Su carácter fuertemente polar y la presencia de puentes de hidrógeno le confieren hidrofiliidad, altas temperaturas de fusión y excelentes propiedades mecánicas. Sin embargo, presentan unas velocidades de degradación excesivamente lentas para poder considerarse materiales biodegradables. En consecuencia, se utilizan como suturas no biodegradables para coser tejidos externos.

Los **poli-α-aminoácidos** son un caso particular de poliamidas, donde cada grupo amida está separado únicamente por un átomo de carbono. Son polímeros ampliamente estudiados con la finalidad de ser utilizados en aplicaciones biomédicas, como piel artificial, membranas de hemodiálisis, y sobretodo como sistemas de liberación controlada de fármacos.

Las **POLIESTERAMIDAS** son polímeros que contienen enlaces éster (-COO-) y enlaces amida (-CONH-) en la cadena principal. Los primeros estudios con poliesteramidas datan de 1979 y se realizaron con polímeros obtenidos mediante el intercambio amida-éster producido



al someter una mezcla de una poliamida y un poliéster a temperaturas del orden de 270°C. Los primeros estudios se realizaron con policaprolactona y diferentes nylons comerciales.

Los **polidepsipéptidos** son una familia de las poliesteramidas constituida por α -aminoácidos y α -hidroxiácidos. En general, son más susceptibles a la degradación enzimática, y la degradación depende del tamaño de los grupos laterales de los comonomeros empleados. A pesar de su potencial no han encontrado una aplicación comercial en el campo de la medicina.

A continuación, y a modo de resumen, vemos ejemplos importantes de las suturas que encontramos en el mercado actual (figura 4.7).

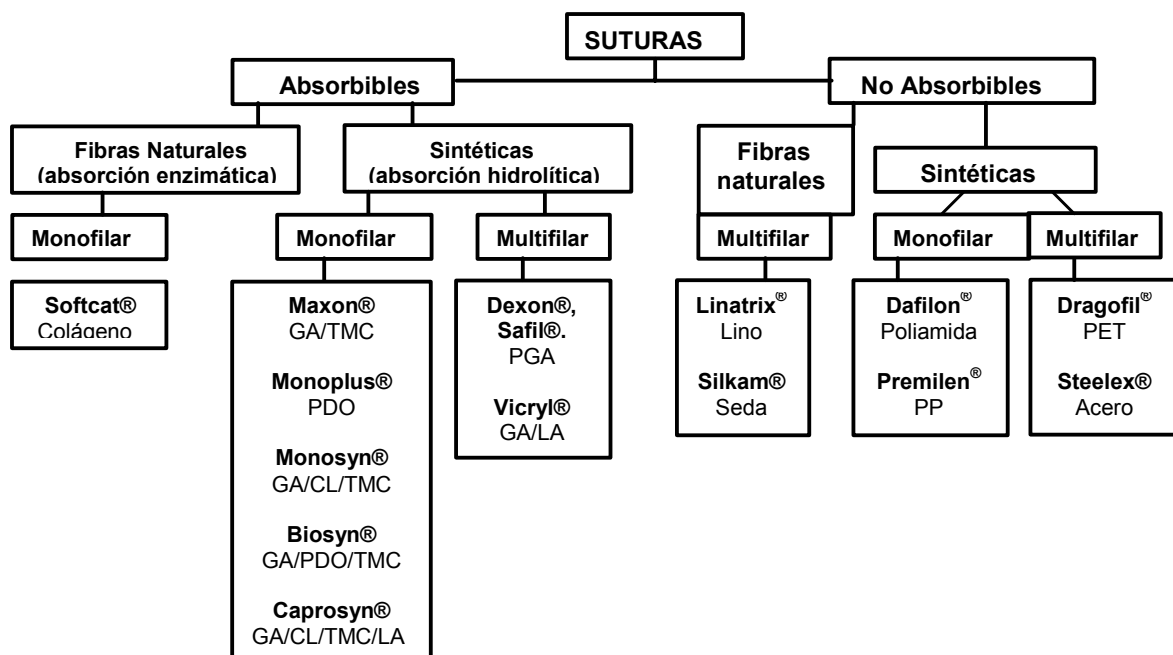


Figura 4.7. Ejemplos de suturas comerciales según combinaciones de monómeros.

4.3. Poli(p-DIOXANONA)

La **poli(p-dioxanona) (PDO)** $\left(-[O(CH_2)_2OCH_2CO]_n-\right)$ es un poli(éster-éter) semi-cristalino que se procesó como primera sutura sintética absorbible monofilamento a principios de los 80. Se diferencia estructuralmente del ácido poliglicólico en que un grupo éster se sustituye por uno éter. En la figura 4.8 podemos ver el esquema correspondiente a la homopolimerización, a partir de monómero cíclico, de p-dioxanona (1,4-dioxano-2-ona). Tiene un gran potencial en el campo médico por su degradabilidad *in vivo*, su baja toxicidad, su dureza y su flexibilidad. El relativamente bajo módulo de



Young lo distingue de los polímeros absorbibles basados en la glicolida y la lactida, que tienen un alto grado de rigidez y son muy quebradizos, además de tener una alta velocidad de degradación. Éstos últimos, cuando se utilizan como suturas, deben emplearse en forma de multifilamentos trenzados para alcanzar las características de manipulabilidad necesarias durante el cosido por el cirujano.

4.3.1. Síntesis

En la década de los 90 se desarrolló un procedimiento en el que la p-dioxanona monómero se obtenía por deshidrogenación oxidativa del dietilenglicol utilizando un catalizador complejo de óxido de cobre. Este procedimiento permitió la preparación a escala industrial de poli(p-dioxanona), empleada principalmente como hilo de sutura.

Aunque son posible varios métodos de polimerización, el método más ampliamente utilizado es la **polimerización por apertura de anillo** con el monómero fundido, empleando octoato de estaño $[\text{Sn}(\text{Oct})_2]$ como catalizador. Se obtiene así un polímero de alto peso molecular capaz de fundir sin descomposición y que en consecuencia puede ser extrusionado en fibras monofilamento.

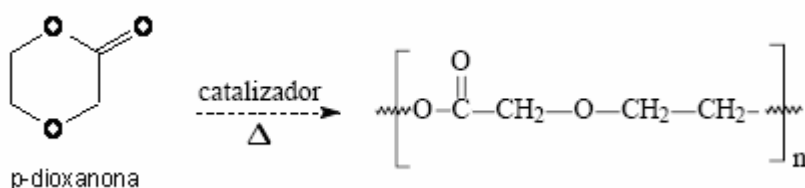


Figura 4.8. Síntesis de la poli(p-dioxanona) (PDO).

Durante las últimas décadas se ha estudiado la **polimerización enzimática**, pues el mayor uso de la PDO está enfocado hacia aplicaciones farmacológicas y quirúrgicas y los catalizadores metálicos deben ser eliminados después de su uso para evitar efectos nocivos.

Nishida et al. [3] estudiaron la polimerización enzimática de la p-dioxanona a 60°C durante 48 horas utilizando un 5% en peso de la lipasa *Candida antarctica*. La conversión de monómero fue muy baja y no fue posible hacerlo a escala industrial. Estudios con otros tipos de enzimas (lipasas, esterasas y proteasas) no mejoraron el resultado de la *Candida antarctica*.



4.3.2. Propiedades

Las propiedades características de interés en su aplicación como hilo para suturas se muestran en la tabla 4.2:

Propiedades de la poli(p-dioxanona) (PDO)	
Temperatura de fusión (°C)	105-110
Temperatura de transición vítrea (°C)	-12
Temperatura de descomposición (°C)	> 270
Cristalinidad (%)	30-35
Resistencia a la rotura (MPa)	450-560
Resistencia en el nudo (MPa)	240-340
Módulo de elasticidad (GPa)	1.2-1.7
Elongación a la rotura (%)	30-38
Calor de fusión (J/g)	45

Tabla 4.2. Propiedades físicas y mecánicas de la PDO.

La presencia de un enlace éter y un grupo adicional $-\text{CH}_2-$ en su estructura molecular confieren a la PDO una gran flexibilidad respecto a los poli(α -hidroxiácidos) (PGA y PLA). Además, se degrada a menor velocidad vía hidrólisis ya que posee menor concentración de grupos éster, reteniendo su resistencia mecánica durante períodos de tiempo mayores. El cambio en la cadena principal de un carbonilo con una cierta deslocalización por un grupo metileno, confiere una mayor flexibilidad al polímero.

Una comparación de las propiedades mecánicas de diversas suturas comerciales fue realizada por Sergio Gámez en su PFC [7]. Los ensayos se llevaron a cabo con calibres USP 1 y con suturas de pesos moleculares similares, y se muestran a continuación:

Sutura	Mód lineal (MPa)	Rp 0.2 (N/mm ²)	Tensión _{máx} (N/mm ²)	ϵ -Tensión máx (%)	ϵ -rotura (%)	Fuerza _{máx} (N)
Safil®	6231,42	100,56	692,13	33,87	33,87	110,08
Monoplus®	1208,04	349,73	660,21	60,77	60,90	105,00
Monosyn®	1924,10	25,23	735,36 *	49,73 *	- *	116,95 *
Maxon®	3759,92	53,47	735,32 *	40,55 *	- *	116,95 *
Caprosyn®	1947,32	677,35	689,22	47,02	47,07	109,62
Monocryl®	2485,29	687,06	735,56 *	36,55 *	- *	116,99 *
Biosyn®	3883,10	650,86	736,41 *	33,26 *	- *	117,12 *

(*) La sutura superó el límite de fuerza máximo que el dispositivo de ensayos de tracción es capaz de ejercer (120N), por lo que estos valores deben ser realmente mayores

Tabla 4.3. Propiedades mecánicas de la PDO y otros hilos reabsorbibles comerciales.



Los datos de la tabla 4.3 muestran que la sutura Monoplus[®] (PDO) es la más flexible de las analizadas, su módulo es el menor (1200 MPa), principalmente debido a su T_g que es de -12°C . Por el contrario, la sutura Safil[®] (PGA) posee el mayor módulo (6230 MPa) debido a que su T_g (40°C) está por encima de la temperatura ambiente. Estos datos numéricos indican que la sutura Safil[®] es rígida y comparada con las demás es frágil, ya que su deformación es la menor (33%). En cambio el hilo de PDO, es la más flexible con una deformación superior al 60%.

Algunos parámetros mecánicos están relacionados con la estructura en bloques del copolímero que constituye la sutura. Por ejemplo, las tensiones máximas que soportan las suturas [$T_{\text{máx}}$]. Los homopolímeros (PGA y PDO) y el copolímero estadístico (Caprosyn[®]) tienen valores menores ($<700 \text{ N/mm}^2$), que las suturas con estructura de bloques rígidos.

En la figura 4.9 se muestran las curvas tensión-deformación de las suturas Monoplus[®] y Safil[®], representativas de los ensayos de resistencia mecánica a la tracción realizados.

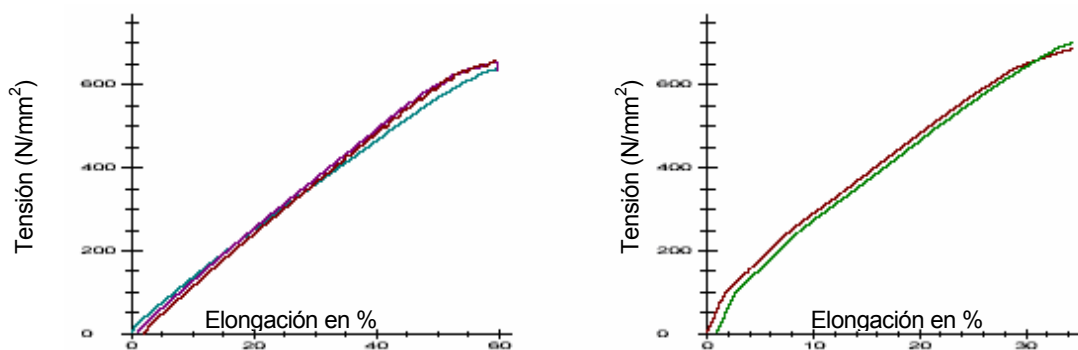


Figura 4.9. Ensayo mecánico de y (resistencia a la tracción. Curvas tensión-deformación de las suturas (izq) Monoplus[®] drcha) Safil[®].

Zurita *et al* [2] estudió las principales propiedades mecánicas de monofilamentos bajo el efecto de la carga de ibuprofeno. Quedó claro, según datos, que no influía en los ensayos de cosido. En la Figura 4.10 se muestra el efecto de la carga sobre la fuerza tensil y la fuerza de rotura. De cualquier forma, según datos numéricos, se debe puntualizar que las propiedades mecánicas no se ven dramáticamente afectadas por el proceso de hinchamiento e incorporación de ibuprofeno.



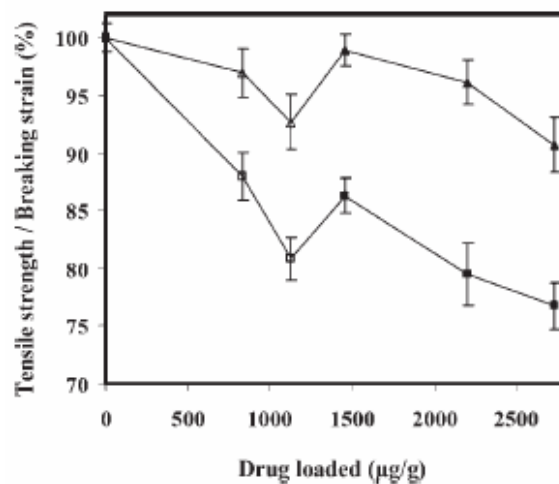


Figura 4.10. Gráfica de la fuerza tensil (▲) y de tensión de rotura (■) de monofilamentos de poli(p-dioxanona) con diferentes cargas de ibuprofeno. Los iconos vacíos y llenos corresponden a muestras que se prepararon en baños de fármaco al 2 y 10% respectivamente.

Además de los ensayos mecánicos de tracción normalizados, en el ámbito de las suturas, y con fines comparativos, es habitual determinar la resistencia mecánica a la tracción en el nudo. Este ensayo se realiza con un fragmento de hilo en cuyo centro se ha practicado un nudo característico. Sometido a un esfuerzo de tracción, el hilo se rompe preferentemente por el nudo. En el PFC de Sergio Gámez se obtuvo el parámetro correspondiente a un hilo de PDO y se compararon con hilos similares de otras composiciones.

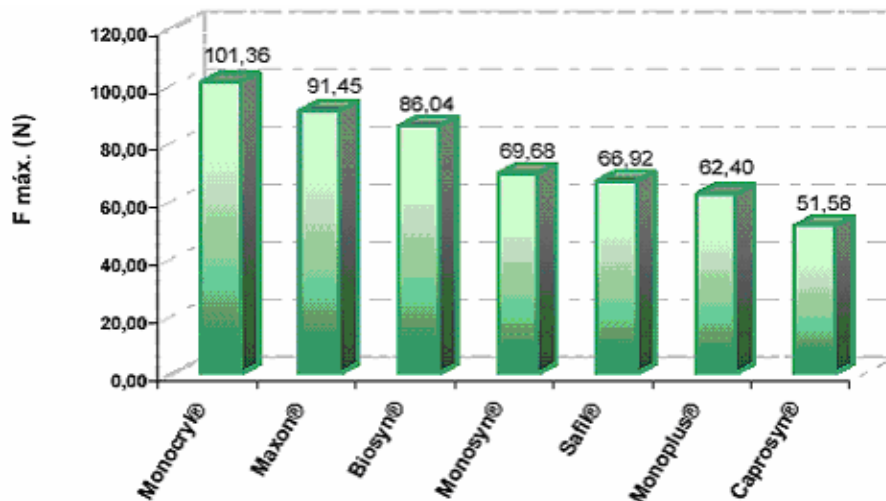


Figura 4.11. Resistencia mecánica a la tracción en el nudo de suturas comerciales.

En la figura 4.11 se observa que las suturas más resistentes a la tracción en el nudo son aquellas que poseen una estructura de copolímeros en bloque. El más resistente entre los analizados es el Monocryl®. Lógicamente los hilos de PDO, al estar constituidos por un solo monómero, no tienen estructura en bloques y presentan uno de los parámetros menores.



La resistencia tensil original se retiene entre un 65-70% en las cuatro primeras semanas y entre el 50-60% después de la sexta semana.

Recibió la aprobación de la FDA como material de sutura bioabsorbible, con un gran potencial en el uso de cirugía ortopédica (osteosíntesis). Aunque la PDO ofrece excelentes resultados finales, se pueden observar reacciones inflamatorias en el tejido, especialmente cuando el implante es subcutáneo. Por eso recientemente se ha introducido una nueva sutura de PDO monofilamento, Serasynth, Germany. Contiene la misma estructura polimérica de la PDS II, pero Serasynth es de tacto más suave y menos rígida. En estudios experimentales en animales, González *et al* [8] demostró que la poli(p-dioxanona) causa menos alteraciones estructurales por ser un monofilamento.

4.3.3. Degradación

Sabino M. A. *et al* [4,5] estudiaron, durante 10 semanas, la degradación hidrolítica de hilos comerciales de poli(p-dioxanona) [PDS II-0, 1mm Ø y 0,486mm Ø] en agua destilada o tampón fosfato pH 7.4, y 37°C. Analizaron la pérdida de peso, variación de pH, el peso molecular y el cambio en la cristalinidad, los cambios en el módulo elástico y la morfología de las muestras.

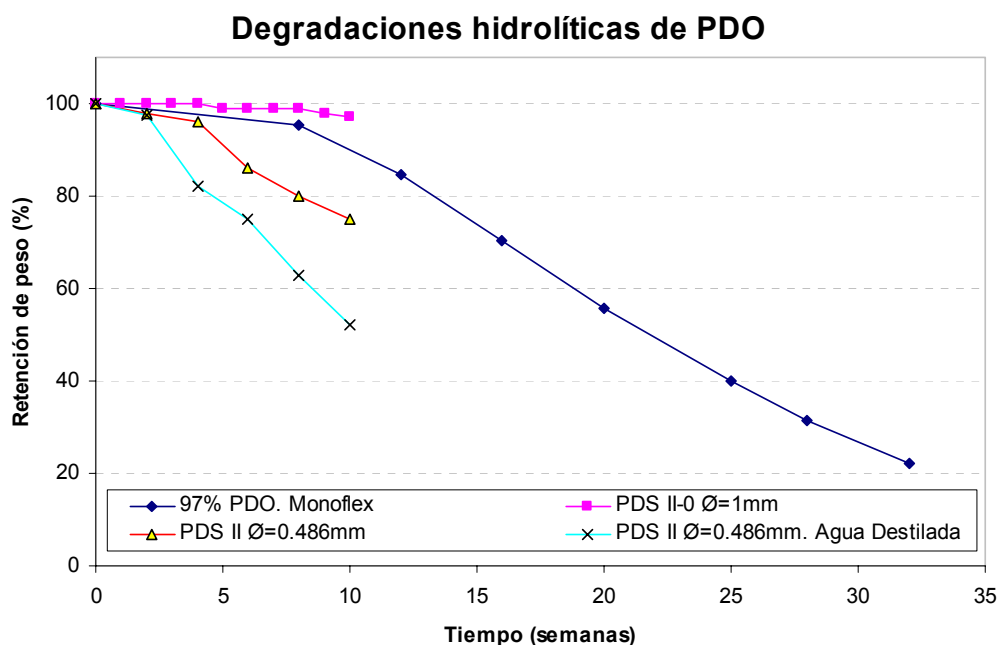


Figura 4.12. Cambios en el peso del hilo poli(p-dioxanona) durante su hidrólisis [4,5,7].

Sus resultados muestran que las suturas de PDO, de 10 cm de longitud, sólo pierden un 3% en peso después de 10 semanas de hidrólisis. Resultados similares fueron expuestos por Im J.M.*et al* [7], que desarrollaron una experiencia análoga durante más de 20 semanas. A los 70 días la pérdida de peso fue del 3%, y a los 150 días, del 60%. Las



muestras de Cameron y Ooi [28], (PDS II-0, 0'357mm Ø), perdieron también un 3% de masa, pero a los 80 días. En un segundo artículo, Sabino *et al* encuentran pérdidas de peso del 25 y el 50% en tampón fosfato y agua respectivamente. Las diferencias de resultados con respecto al primer trabajo lo justifican por el mayor peso molecular de la muestra del primer estudio.

La PDO, debido a su estructura química, pierde poco peso en comparación con el ácido poliglicólico (PGA) y el ácido poliláctico (PLA), puesto que éstos contienen mayor proporción de enlaces éster. También influye el hecho de ser sutura monofilar, pues tiene menor superficie de contacto con el medio acuoso que estas últimas, multifilares.

Sabino M. A. *et al.* (figura 4.13a) muestran que el pH del tampón varía entre 7,4 (después de una semana) y 5,5. En el segundo artículo referenciado (figura 4.13b), se alcanza un pH de 6 para el tampón fosfato y de 4,75 para el agua destilada. El pH se mantiene relativamente constante hasta la séptima semana, y después desciende como consecuencia de que la reacción hidrolítica genera productos con grupos ácidos. En cuanto a la caída del peso molecular (M_w), hallan que el valor inicial $183 \cdot 10^3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ desciende hasta $9 \cdot 10^3$ al finalizar el tiempo de degradación.

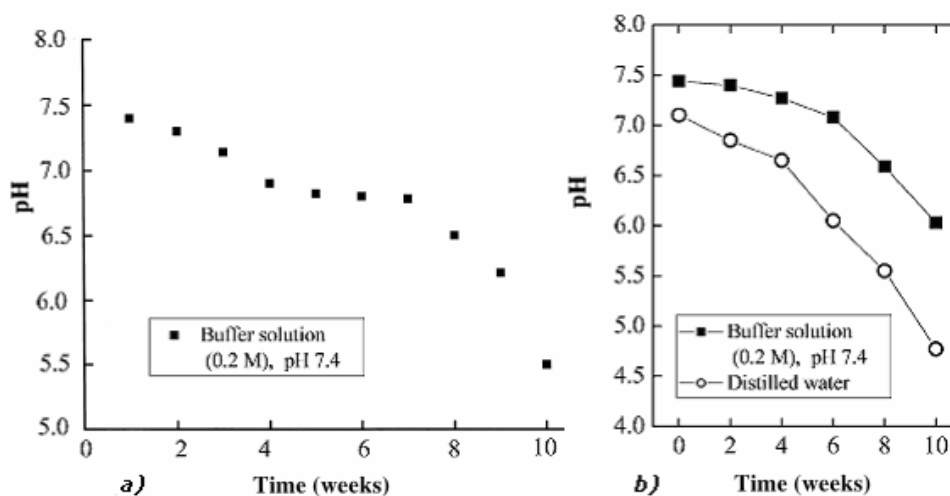


Figura 4.13. Descenso del pH del medio de hidrólisis del hilo poli(p-dioxanona)[4,5].

La gráfica del pH indica que la capacidad del medio tamponado ha sido claramente excedida. Cuando el agua destilada se usa como medio de degradación y no hay tampón para equilibrar el pH, la acidez del medio es mayor, y acelera la hidrólisis de las moléculas del polímero.

El mecanismo hidrolítico propuesto en la literatura [4,5] para la PDO (en condiciones de pH neutro) implica la rotura de enlaces éster de las cadenas poliméricas.



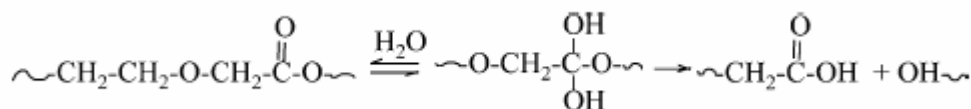


Figura 4.14. Esquema de la hidrólisis del poliéster alifático PDO, en una solución acuosa.

Los cambios en las propiedades térmicas del material son seguidos por calorimetría DSC. Las curvas del primer calentamiento muestran la desaparición progresiva de los dos picos de fusión iniciales a partir de la sexta semana, originando la formación de uno nuevo a temperatura intermedia.

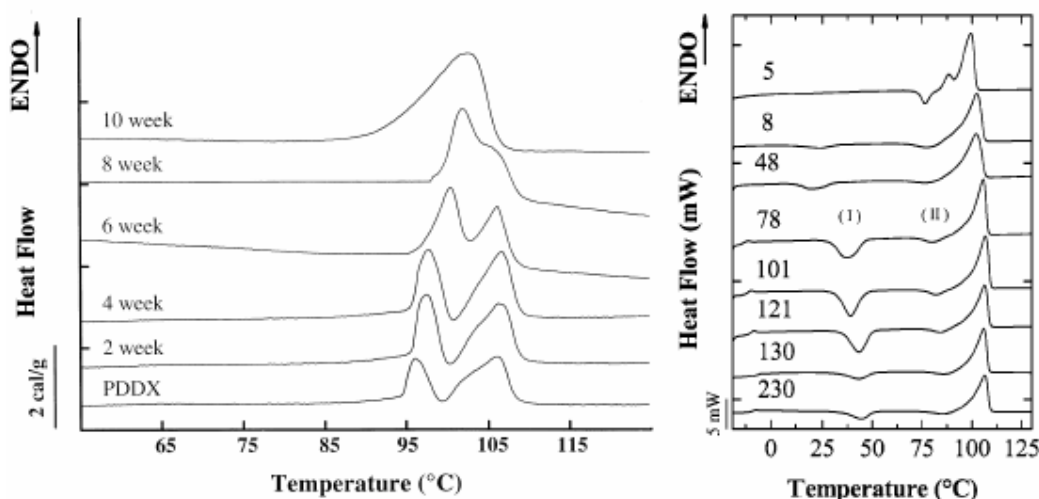


Figura 4.15. Calorimetría DSC de hilos de PDO sometidos a hidrólisis (a) Primer barrido, 5° C/min, [4]. (b) Calentamientos DSC (a 10° C/min) después de eliminar la historia térmica [5]. Los números de cada termograma indican el peso molecular promedio de cada muestra.

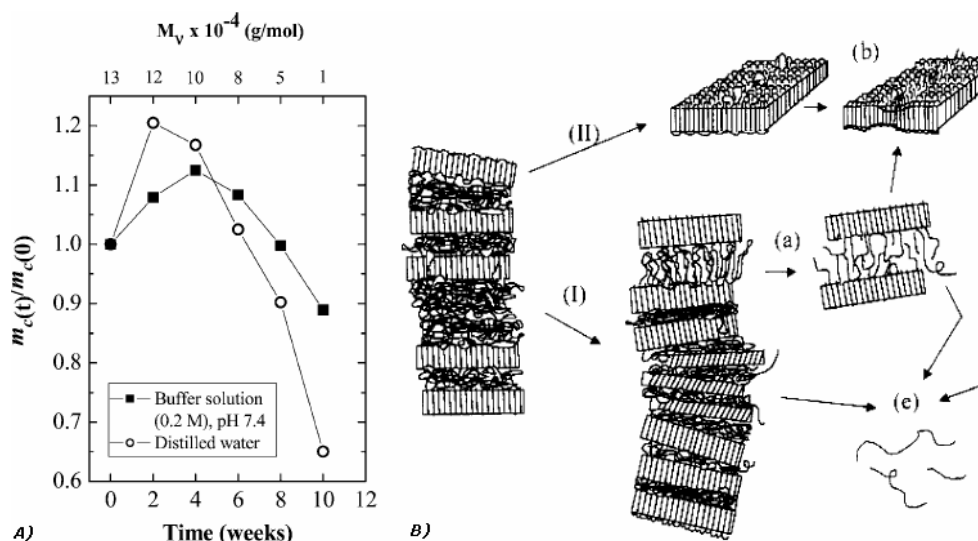


Figura 4.13. (A) Variación de la fracción relativa de cristalinidad en función del tiempo de hidrólisis. Los valores aproximados de M_v de las muestras que se degradaron en el tampón fosfato se han incluido en el eje horizontal superior. (B) Esquema de la transformación morfológica de la degradación hidrolítica de la PDO. La ruta (I) se refiere al ataque preferente de las regiones amorfas, mientras que la ruta (II) indica cómo pueden ser atacadas las regiones cristalinas.



En la figura 4.16 se muestra la cantidad de material cristalino presente. La velocidad de incremento en las regiones cristalinas es mayor que la velocidad de reducción de las mismas durante las 4 primeras semanas para el tampón fosfato y en las 2 primeras semanas para el agua destilada. La pendiente negativa de la curva es un indicativo de cuándo empiezan las regiones cristalinas a ser atacadas, siendo evidente cuando el cociente de masa cae por debajo de 1.

En cuanto a cambios morfológicos de las muestras de polímero comercial, se hace un exhaustivo análisis en ambos trabajos [4,5] a diferentes semanas. Los cambios en las propiedades mecánicas se estudian siguiendo la variación del módulo de elasticidad. Este descende desde la primera semana de hidrólisis alcanzado un valor del 85% del inicial al cabo de ocho semanas en el tampón.

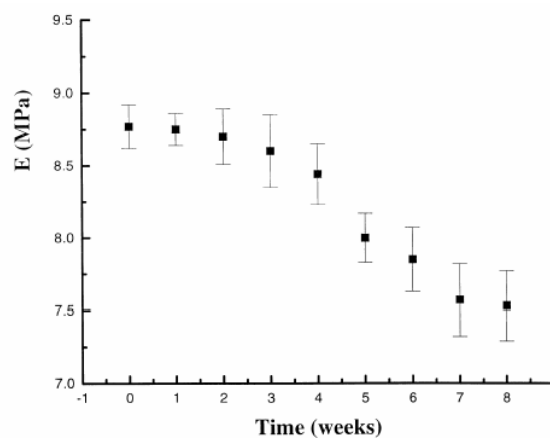


Figura 4.14. Disminución del módulo de elasticidad, E , en función del tiempo de hidrólisis de hilos de PDO.[4].

Im J.M *et al* [7] trabajó con Monoflex (97% de PDO), y en degradaciones *in vitro* su retención fue del 55% de fuerza original a las cuatro semanas de incubación en tampón fosfato salino (PBS) 37°C. En los ensayos en vivo (implantación en ratas) la reabsorción es lenta (180-210 días), y la sutura conservaba el 70% de su fuerza original.

4.4. Biomateriales e infecciones

La utilización de biomateriales va a asociada a infecciones en un porcentaje importante de casos. Estos procesos infecciosos generan a menudo complicaciones en pacientes en contacto con el implante y un alto coste tanto en hospitalización como en fármacos. Conscientes del problema, los fabricantes de biomateriales se las ingenian para desarrollar biomateriales que ellos denominan “antiinfección”, “bio-activos” o “antimicrobianos”.

Un proceso infeccioso en el que se ve implicado un biomaterial se inicia con la adhesión de bacterias en el implante. En su colonización y extensión por la superficie, las bacterias generan una “biopelícula” en la que estos microorganismos encuentran un medio ideal de



crecimiento y desarrollo. Así, las bacterias producen un exopolisacárido "*glicocalix*" que, mezclado con compuestos químicos provenientes del material, genera la biopelícula protectora. En el interior de esta biopelícula los microorganismos se reproducen con facilidad, y algunas bacterias escapan y atacan nuevas superficies aún no colonizadas.

La estructura de la biopelícula permite también la acumulación de nutrientes y la defensa contra los agentes antimicrobianos, siendo también un espacio idóneo para la llegada y reproducción de nuevas bacterias. Así se genera una elevada densidad bacteriana, lo que facilita la cooperación entre diferentes tipos de ellas, e incluso su intercambio genético, que es el origen del aumento de su resistencia a los fármacos. Las bacterias en el interior de la biopelícula pueden llegar a ser 1000 veces más resistentes a los fármacos que fuera de ella. Así se explica la elevada resistencia de las bacterias del biofilm a altos niveles de antibióticos o a la prolongada acción de estos fármacos.

Los compuestos con acción antimicrobiana pueden ser clasificados en **antibióticos** y **antisépticos** (no-antibióticos). Ambos son eficaces en la lucha contra las infecciones, aunque los antisépticos son menos selectivos (al mismo tiempo que eliminan las bacterias, también pueden provocar daños en otras células). Sin embargo, las bacterias desarrollan más fácilmente resistencia a los antibióticos que a los antisépticos. Precisamente en la lucha contra la resistencia de las bacterias se ha llegado a la conclusión de que el empleo de combinaciones de antimicrobianos es mucho más eficaz que el uso de uno solo de ellos. Así es factible conseguir un mayor espectro de actividad empleando una menor concentración de fármacos.

Cáteters antimicrobianos

Un catéter es un dispositivo de uso médico en forma de tubo hueco muy fino que puede ser introducido dentro de un tejido o vena. Dado el relativo parecido de un catéter con un hilo de sutura, y como ambos son implantables en órganos y tejidos, creemos conveniente exponer con cierto detalle algunos trabajos de desarrollo de cateters antimicrobianos, por ser un buen punto de partida para el diseño de suturas anti-infección.

Las infecciones provocadas por catéters en pacientes están causados por formación de la biopelícula microbiana adherida a las superficies interna ó externa del biomaterial; por eso se deben administrar antibióticos por vía oral o mediante inyecciones. Sin embargo, la eficacia de este tratamiento no es muy alta, puesto que es difícil conseguir una elevada concentración de agente antimicrobiano en la superficie del catéter, una vez éste está implantado en el interior del tejido u órgano.



Existen varias formas de preparar **cateters con actividad antimicrobiana**:

Inmersión: Es uno de los métodos habituales para incorporar antimicrobianos en la superficie de los objetos médicos. Antibióticos del tipo rifampicina, ciprofloxacina, tobramicina, y algunas cefalosporinas son los más estudiados. Sin embargo, los biomateriales tienen escasa afinidad por los fármacos ensayados, y éstos quedan adsorbidos superficialmente y no penetran en la matriz polimérica. Los resultados indican que los cateters así tratados muestran una reducción inicial de la colonización por bacterias. No obstante, son poco efectivos para impedir la formación de la biopelícula bacteriana a largo plazo.

Mediante inmersión de biomateriales de naturaleza hidrofóbica en soluciones acuosas de fármacos se obtienen incorporaciones muy limitadas y decepcionantes resultados clínicos. Solo puede ser un método a utilizar en circunstancias muy concretas, por ejemplo, cuando la inmersión se efectúa en la propia clínica inmediatamente antes del uso del biomaterial

Para obtener resultados efectivos sumergiendo biomateriales en soluciones acuosas de fármacos se han de escoger **biomateriales de naturaleza hidrofílica**; los hidrofóbicos obtuvieron incorporaciones muy limitadas. Un ejemplo hidrofílico puede ser un objeto médico cuya superficie está formada por un polímero tipo hidrogel: al sumergirlo en una solución acuosa, el hidrogel se hincha y absorbe así una parte del fármaco disuelto.

Recubrimiento: Un material polimérico puede ser dotado de una amplia gama de recubrimientos para proteger el implante contra las infecciones. Así, la incorporación superficial de antimicrobianos mejora considerablemente si el objeto a recubrir es previamente tratado con sustancias, denominadas “tie”, que tienen capacidad para unirse tanto al polímero base como al fármaco.

Un ejemplo bien conocido es el uso de un **surfactante catiónico** como el cloruro de tridodecilamonio (TDMAC). La estrategia consiste en incorporar el compuesto “tie” disuelto en un solvente orgánico que facilita que las largas cadenas del surfactante queden atrapadas en la superficie del biomaterial ligeramente hinchada y, en consecuencia quede situado hacia el exterior, el extremo con carga positiva. Una vez seco, el implante es sumergido en una solución acuosa de un antibiótico aniónico, que es retenido electrostáticamente por las cargas positivas que parten de la superficie del biomaterial.

Esta metodología ya ha sido aplicada en varios casos, existiendo estudios con potencial aplicabilidad. En uno de ellos se recubren los cateters de poliuretano con monociclina y etilendiaminotetraacetato, encontrándose una reducción en la infección recurrente por bacterias. En cateters recubiertos con minociclina y rifampicina se ha observado una disminución del riesgo de infección en el torrente circulatorio.



También se han incorporado en recubrimientos, antimicrobianos de naturaleza muy distinta (aquellos que contienen plata). Una combinación muy estudiada es la formada por sulfadiazina de plata con clorhexidina, empleada en cateters insertados en el sistema venoso. Su eficacia ha sido comparada con la del dúo minociclina/rifampicina, sin ser muy claros los resultados debido a la diferente metodología utilizada para cargar los cáterters.

Carga en el polímero: Aunque los métodos de inmersión y recubrimiento tienen la ventaja de su simplicidad, cuentan con el inconveniente de que la cantidad de fármaco incorporada al biomaterial es muy reducida. La liberación del fármaco al medio es muy rápida y puede ser insuficiente si queremos obtener un prolongado efecto antibacteriano. La situación cambia si incorporamos el fármaco en el interior del objeto médico: la cantidad de droga es mucho mayor y así obtenemos efectos a largo plazo. La carga del fármaco en la matriz polimérica puede realizarse durante la síntesis del polímero o bien durante la manufactura del implante.

Se han estudiado aleaciones de policaprolactona con un copolímero policaprolactona / polivinilpirrolidona para la fabricación de cateters a usar en vías urinarias, que incorporan yodo como antimicrobiano. Se encontró que los blends que más rápidamente se degradaban y en consecuencia liberaban más yodo al medio eran los que mayor resistencia oponían a la incrustación y a la colonización por bacterias.

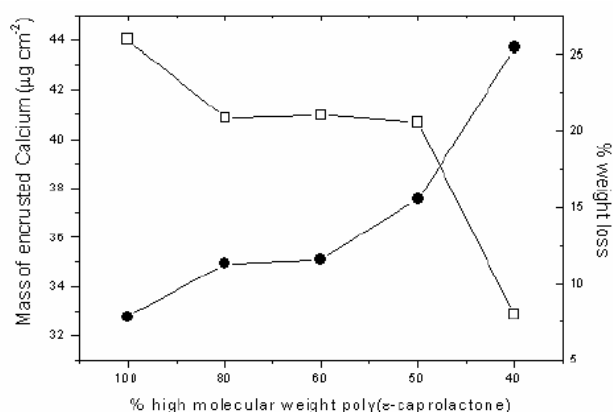


Figura 4.15. Efecto del peso molecular de un blend de policaprolactona (mezcla de PLC de alto y bajo peso molecular) en: (●) la degradación expresada en % de pérdida de peso; (□) la resistencia a la incrustación, expresada en masa de calcio adherido.

Un inconveniente que debe ser tenido en cuenta en esta metodología es la potencial reducción de propiedades mecánicas del implante cuando éste incorpora una sustancia de bajo peso molecular en su interior. Aunque las cantidades de fármaco cargado suelen ser inferiores al 2-3%, y los biomateriales están diseñados para cumplir normativas sanitarias muy rigurosas, es necesario determinar en cada caso la disminución de propiedades mecánicas para verificar que son próximas a las del material sin cargar.



Conjugados fármaco-polímero: La unión covalente entre el agente antimicrobiano y el monómero antes de la polimerización y fabricación del implante ha recibido poca atención de los investigadores comparado con los métodos ya mencionados. En estos sistemas, la difusión no es el principal mecanismo responsable de la liberación del fármaco en la estructura polimérica hidrófila, sino que ésta se produce cuando, al contacto con fluidos internos, se hidroliza el enlace covalente que unía fármaco y polímero. Mediante este tipo de sistemas se consigue prolongar los efectos terapéuticos hasta varias semanas.

Este método ha sido aplicado en la preparación de stents con capacidad antitrombogénica y antibacteriana, el material se elaboró uniendo covalentemente heparina a una silicona en cuya superficie se depositó colágeno entrecruzado conteniendo antibióticos en su interior.

4.6. El efecto de la adición de un fármaco en biomateriales.

F. Alexis [10] analiza en un *review* varios artículos publicados recientemente que tratan de los factores que influyen en la degradación y en la liberación de fármacos de matrices de poli(glicólico) y del copolímero poli(glicólico/láctico). Describe los efectos de la composición, la cristalinidad, el peso molecular promedio, el tamaño de la matriz, los efectos del pH del medio de liberación, de la esterilización, las enzimas, la tensión, el flujo de fluido y el proceso de fabricación.

Pero además, comenta la influencia de otras sustancias químicas presentes, considerando como tales el fármaco a liberar por la matriz. Indica el autor que la literatura reciente refleja contradicciones sobre el papel jugado por estos aditivos reactivos. Dado que el poli(glicólico) y sus copolímeros son macromoléculas de la misma familia que la PDO, comentamos aquí algunos de estos trabajos con el fin de documentar el capítulo 8 de este proyecto.

Li *et al* [16] examinaron el mecanismo de la degradación hidrolítica del PDLLA en presencia de cafeína (1, 2, 5 y 20 wt%), un componente básico. El efecto catalítico, al final de los ensayos de degradación, fue mayor para sistemas con bajo contenido en cafeína (1 y 2 wt%). En los de alto contenido (5 y 20 wt%), la cafeína cristalizó y por lo tanto no estuvo disponible para la catálisis básica. Además, la cafeína jugó un papel más complejo en la degradación en el que tiene importancia la solubilidad en el polímero. Cuando la droga se encuentra en forma dispersa, necesita un tiempo extra para disolverse e iniciar su acción catalítica.

Zhang *et al* [17] investigaron los efectos de sales metálicas encapsuladas (10 wt%) en la absorción de agua y en la degradación de PLGA 50/50. Encontraron que estaba fuertemente relacionada con la presencia y la naturaleza de las sales. Las sales de baja solubilidad en



agua provocaron un incremento de absorción de agua por el polímero que, en contra de lo esperado, disminuyó la velocidad de degradación. El autor atribuye esta acción a las propiedades alcalinas de las sales hidróxido y carbonato empleadas. Se esperaba también que se interrumpiera la degradación autocatalítica causada por los ácidos carboxílicos generados en la hidrólisis del poliéster. Sin embargo, no hubo efecto de complejación de los grupos terminales carboxilo con las bases (igual velocidad de degradación).

Bodmeier *et al* [18], estudiaron un sistema basado en PDLLA cargado con cafeína (2.8 wt%), ácido salicílico (6.7 wt%) y quinidina (de 12.5 a 22.5 wt%). Las muestras se elaboraron mezclando PDLLA de alto peso molecular con PDLLA de Mw 2000 que contenía los fármacos. Al compararlos, la cafeína se liberaba con más rapidez que el ácido salicílico, que a su vez era más rápido que la quinidina. La liberación rápida de cafeína se atribuyó a la reducción de la Tg, y la quinidina mostró un patrón complicado por los grupos carboxílicos degradados de la PDLLA.

Giunchedi *et al* [15] investigaron los perfiles de degradación del PLGA 50/50 cargado con diazepam (base) (2 wt%), que eran mayores que los no cargados. Cerca del 35 wt% del monómero GA se liberó de las microesferas con fármaco en 20 días, en contraposición con el 8 wt% del blanco.

Miyajima *et al* [19] investigaron los efectos de las propiedades fisicoquímicas del fármaco en su liberación en una matriz cilíndrica de PLGA 70/30. Cinco fármacos alcalinos (chlorpheniramine, papaverine, diltiazem, verapamil y nicardipine), uno ácido (naproxen) y dos neutros (testosterona y griseofulvin). Al contrario que con la cafeína, la incorporación de los fármacos básicos incrementó la Tg del PLGA de 30 a más de 41°C, presumiblemente por las interacciones entre los grupos carboxílicos del polímero y los fármacos. Esta interacción mantiene las drogas disueltas en la matriz durante los estudios de liberación y además blinda los grupos carboxílicos terminales, resultando una menor erosión de la matriz. En contraste, los fármacos ácidos y neutros tienen sólo interacciones débiles con el PLGA. El naproxen y la testosterona precipitaron en la matriz como cristales en un día de degradación. Aún así, es difícil considerar que la absorción de agua explica una liberación más rápida del fármaco ácido. Podría ser concluyente que el factor controlador de la liberación es la dispersión del fármaco y la solubilidad en la matriz polimérica (que en fármacos ácidos y neutros es alta). En resumen, los fármacos ácidos tienen una liberación más rápida que los básicos, y éstos a su vez que los neutros. Sin embargo, la comparación tiene un matiz: los fármacos ácidos/neutros sufren cristalización al formar una matriz dispersa con fármaco (confiriendo rigidez al polímero), en contraste con la disolución del fármaco básico en la matriz.

Compararemos otro estudio de Miyajima *et al* [20]: discos de PLLA hechos por compresión en caliente y cargados con fármacos básicos liberaron el 40% de la carga inicial. Sin embargo, los ácidos/neutros liberaron el 50 y 20% respectivamente, en dos días de



liberación. La razón de que el ácido tenga la velocidad de *release* mayor no queda clara de nuevo, pero se sugiere que es causa de las interacciones fármaco-polímero y la solubilidad en la matriz polimérica.

En el artículo previo de Alexis F. [21], la lidobase y el lidoslat mostraron diferencias de liberación desde films de PDLLGA. La lidobase se liberó en dos fases, y aceleró notablemente la degradación por catálisis básica, llevando a una pronta rotura de la matriz. El lidosalt se liberó en tres fases y tuvo una degradación más estable. La degradación y el mecanismo de degradación de polímeros biodegradables dependen claramente del efecto de las propiedades químicas del fármaco incorporado.

La **cantidad de fármaco incorporada** tiene un efecto considerable en la velocidad y duración de la liberación del fármaco. Grandes contenidos provocan un efecto *burst* mayor. Wada *et al* [22] estudiaron la velocidad de liberación desde microesferas de PLLA cargadas con insulina. En el caso del 20 wt% de carga de insulina, el efecto *burst* alcanzó el 50 % del total incorporado. Para una carga del 10 wt%, el efecto *Bursa* alcanzo un 20 %.

Gümüsdereliolu y Deniz [25] sugirieron que las velocidades de liberación y la fracción total liberada aumentaba cuanto mayor era la carga inicial. En el otro extremo, Miyajima *et al* [26] añadieron el fármaco básico verapamil en un 5 y 10 wt%, y verificaron que la velocidad de liberación en el 5 wt% era la mayor. Mayores contenidos en fármaco tuvieron mayores T_g , menor absorción de agua y menos pérdida de peso.



5 Incorporación de triclosan

El triclosan o irgasan (**TCS**) es un potente agente antibacteriano y fungicida de amplio espectro. Es un polvo cristalino blanco, de olor débilmente aromático, y poco soluble (solubilidad en agua a 20°C= 0'01g/L) pero se disuelve en presencia de bases (p. e. en 1 N NaOH). Tiene un punto de fusión de 55-60°C. La alta lipofilidad hace del triclosan un buen candidato para la liberación a través de la piel.

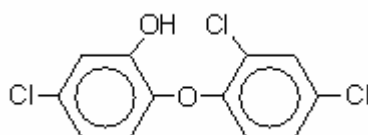


Figura 5.1. Estructura química ($C_{12}H_7Cl_3O_2$) de Triclosán.

El triclosan (2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter) es un antiséptico utilizado en productos hospitalarios (soluciones para lavado de manos quirúrgico, jabones para lavado de pacientes) y productos de consumo (desodorantes, dentífricos, colutorios) como agente desinfectante. Así lo atestigua la bibliografía [11,12], donde se incorporó triclosan a polímeros sintéticos en un simple proceso de fusión conjunta.

Niveles sub-ppm de este antibiótico proporcionan resistencia al crecimiento de *E. coli.*, *Staphylococcus* y de *Esterococcus faecalis* [12]. Se define su mecanismo de acción conocido como la difusión a través de la membrana citoplásmica e inhibición de la síntesis de RNA, lipídica y proteica.

5.1. Carga de Fármaco en las suturas

En todo este trabajo se utilizaron únicamente hilos de suturas violetas de poli(p-dioxanona) (PDO) (Monoplus®). de calibre USP 1 (diámetro 0,53mm) que fueron suministradas por BBraun Surgical. Todas ellas cumplen con la European Pharmacopeia (01/2005:0666).

Según bibliografía, la PDO es soluble en diclorometano, cloroformo, 1,1,2,2-tetracloroetano y hexafluoroisopropanol (a temperatura ambiente) cuando el peso molecular no es muy elevado. Si el polímero es de alto peso molecular (como el que nos suministran), es insoluble en diclorometano y cloroformo. También es soluble en dimetil sulfóxido (DMSO) y N,N-dimetil formamida, y completamente insoluble en tolueno, acetona y tetrahidrofurano.

Se requería un solvente para los baños de carga de triclosan, y se debía tener en cuenta la baja hidrofiliidad del antibacteriano además de su interacción con la poli(p-dioxanona). Se



realizaron ensayos en laboratorio con el fin de verificar la acción de los solventes (hinchamiento y decoloración) sobre las suturas. Para ello mantuvimos trozos de 5 cm de hilo sumergidos en 10 ml de solvente (figura 5.2) durante algunos días. Finalmente, se escogió el diclorometano por ser un buen solvente del triclosan, y un no solvente del hilo, que sin embargo provocaba su hinchamiento y consiguiente decoloración. En la figura 5.2 pueden observarse la acción de los disolventes tras 24 horas en contacto con el hilo.

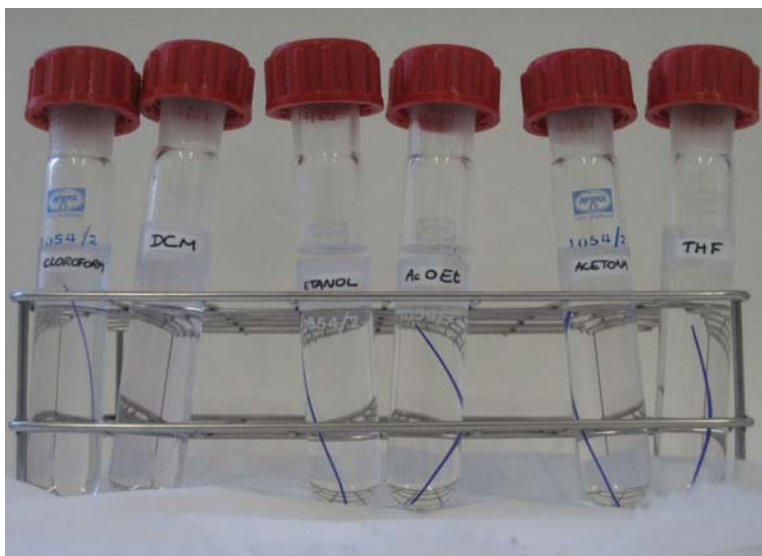


Figura 5.2. Decoloración de los hilos de poli(p-dioxanona) sumergidos 24h en varios disolventes.

El procedimiento de carga de fármaco se realizó con fragmentos de 5 cm de longitud: dos suturas por experimento para garantizar la reproducibilidad de la liberación, y siempre corroborando el resultado (por duplicado se observa si hay desviación). Los hilos de sutura cargados con triclosan se prepararon siguiendo los siguientes métodos:

Suturas con TCS en su interior: Mediante inmersión de los hilos en una disolución de diclorometano que contenía diferentes concentraciones (porcentajes en w/v) de triclosan. El diclorometano, además de solvente, ejercía el papel de hinchar la sutura monofilar. Para obtener hilos con distintas cargas se varió también el tiempo de inmersión en la solución de fármaco. Finalizado el tiempo de carga, los hilos se dejan a temperatura ambiente durante 24h para que el diclorometano se evapore lentamente y el hilo recupere su tamaño inicial; finalmente se secan 6h a vacío.

La mayoría de estas muestras se lavaron posteriormente con AcOEt para eliminar el TCS que pudiese haber quedado adherido en su superficie. Se hicieron tres lavados con AcOEt con una duración de medio minuto cada uno de ellos, dejándolos secar a temperatura ambiente.



Suturas con TCS en un recubrimiento de PCL: El fármaco se incorporó al hilo en un recubrimiento de policaprolactona. El procedimiento seguido consiste en sumergir el hilo durante medio minuto en una solución de PCL y fármaco, en diclorometano. El porcentaje de PCL en el baño fue del 3% w/v, y los de triclosán fueron del 5 y 10% w/v. Posteriormente los hilos se mantuvieron durante 24h en una atmósfera sin humedad, y finalmente se secaban bajo vacío para eliminar cualquier traza de disolvente.

Suturas con TCS en un recubrimiento de PCL/ Est de Mg: Un recubrimiento a partir de un baño de diclorometano con un 5% de TCS, y un 3 % de una mezcla estearato de magnesio (lubricante) y policaprolactona en proporciones 15-85% y 30-70% respectivamente.

El objetivo de los recubrimientos es minimizar los tiempos de preparación de la sutura para configurarla como un sistema de liberación de triclosan, y verificar si la carga es más elevada que cuando se realiza sin recubrimiento. Los derivados del ácido esteárico son sustancias de uso habitual en Farmacia. El ácido esteárico se usa como coadyuvante para emulsiones y lubricante de comprimidos. El estearato de magnesio y el de calcio se utilizan como lubricantes para comprimidos, mezclados con otros excipientes.

En la tabla 5,1 se recogen los hilos de sutura cargados con triclosan que, en este trabajo, se han preparado con el objetivo de estudiar la liberación controlada del triclosan. Las referencias a cada hilo se hace por el siguiente código (de izquierda a derecha): si lleva o no recubrimiento polimérico (R o SR), el número de la cantidad de fármaco en disolución (% w/v), el tiempo de carga y si se ha lavado o no (L o SL). En el caso de los recubrimientos, el primer tanto por ciento corresponde a la composición del mismo, y el segundo, a la cantidad de fármaco en % w/v.

En la tabla 5.2 se recogen los hilos de sutura cargados con triclosan o con ibuprofeno que, en este trabajo, se han preparado con el objetivo de estudiar la potencial acción catalítica del fármaco en la degradación del hilo. Para estos estudios de degradación se utilizaron como referencia dos hilos de PDO. Uno de ellos es un hilo comercial de PDO, sin ningún tratamiento, que contiene un 0,2% de violeta de cristal para colorear el hilo. La segunda referencia es un hilo de PDO comercial al que se le extrajo el colorante con el objetivo de verificar si, dado el carácter básico de este colorante, actúa como catalizador en la hidrólisis.



Suturas de PDO cargadas con TCS para estudios de Liberación Controlada					
Método	Triclosan + componente	Lavados	% triclosan (w/v%)	Tiempo de carga	Acrónimo
Inmersión	Disolución en CH ₂ Cl ₂	Sí	2%	1 hora	SR2%01L
				2 horas	SR2%02L
				8 horas	SR2%08L
				24 horas	SR2%24L
			5%	1 hora	SR5%01L
				4 horas	SR5%04L
				8 horas	SR5%08L
				24 horas	SR5%24L
		No	10%	1 hora	SR10%01L
				4 horas	SR10%04L
				8 horas	SR10%08L
				24 horas	SR10%24L
Recubrimiento	3% (w/v) de policaprolactona en CH ₂ Cl ₂	No	5%	--	R3%PCL5%
			10%		R3%PCL10%
Recubrimiento	3%(w/v)*[15% estearato Mg + 85% PCL] en CH ₂ Cl ₂	No	5%	--	R[15-85%]5%
	3%(w/v)*[30% estearato Mg + 70% PCL] en CH ₂ Cl ₂				R[30-70%]5%

Tabla 5.1. Relación de las suturas preparadas para la liberación controlada de TCS.

Suturas de PDO cargadas con fármaco. Estudio de Degradación Hidrolítica			
Método	Fármaco al 10% w/v	Horas de inmersión	Acrónimo
Sin tratar	--	--	Virgen
Inmersión en CH ₂ Cl ₂	--	24	NOcolor
	Triclosán	24	10%TCS24L
	Triclosán	4	10%TCS04L
	Triclosán	1	10%TCS01L
	Ibuprofeno	24	10%IBF24L
	Ibuprofeno	4	10%IBF04L

Tabla 5.2. Relación de las suturas preparadas para la degradación hidrolítica.



5.1.1. Determinación de Triclosan por HPLC

Recta calibrado de triclosan.

En el laboratorio, se evaluaron las cargas de triclosan en los hilos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para la determinación cuantitativa del fármaco, se prepararon dos rectas de calibrado a partir de una solución madre de la que se hicieron 5 diluciones. Partiendo de 31'4 mg/ml, la relación de diluciones fue:

$$1. \quad 31'4 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot \frac{0'5\text{ml}}{50\text{ml}} = 0'00314\text{mg} / \text{ml}$$

$$2. \quad 31'4 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot \frac{0'5\text{ml}}{25\text{ml}} = 0'00628\text{mg} / \text{ml}$$

$$3. \quad 31'4 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot \frac{1\text{ml}}{25\text{ml}} = 0'01256\text{mg} / \text{ml}$$

$$4. \quad 31'4 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot \frac{1\text{ml}}{10\text{ml}} = 0'0314\text{mg} / \text{ml}$$

$$5. \quad 31'4 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot \frac{2\text{ml}}{10\text{ml}} = 0'0628\text{mg} / \text{ml}$$

Para las determinaciones en el HPLC se utilizó como eluyente etanol. Hechas las medidas por duplicado e interpretados los datos (tiempo de retención para el triclosan entre 3'6 y 3'7 min), se obtuvieron dos rectas resultado de realizar dos experimentos independientes:

$$A_1 = 10161912,52243 \cdot C_1 - 3019,70265376 \quad r^2 = 0,99996$$

$$A_2 = 10758194,19537 \cdot C_2 - 2299,39968 \quad r^2 = 0,99945$$

Siendo A el área obtenida según el programa Empower Login, y C la concentración en (miligramos TCS/ml). Por fiabilidad, comprobamos cuál se ajustaba más a la realidad. Se disolvió un peso determinado de triclosan (0'0119g) en 50 ml (en matraz aforado) de diclorometano. De esta manera obtuvimos que:

$$\frac{0'0119\text{g}}{50\text{ml}} \cdot \frac{1\mu\text{g}}{10^{-6}\text{g}} = 238\mu\text{g} / \text{ml}$$

$$C_1 = (\text{área} + 3019,70265376) / 10161,91252243 = 241'30 \mu\text{g} / \text{ml}$$

$$C_2 = (\text{área} + 2299,39968) / 10758,19419537 = 227'86 \mu\text{g} / \text{ml}$$

Al ser la confianza mayor ($r^2 = 0,99995763$), nos quedamos con la recta de calibrado 1.



5.1.2. Determinación de la carga de TCS en los hilos

Para la determinación del contenido de triclosan que se encuentra en la matriz de los hilos cargados sin recubrimiento se sumergieron éstos en DCM durante un tiempo determinado. Como es de esperar, el hilo se hincha y el TCS sale a la disolución de forma que se igualen las concentraciones de fármaco en el DCM que se encuentra en el interior del polímero y en el exterior de él. El procedimiento concreto seguido se expone a continuación.

Los hilos cargados con el antibacteriano se disponen en tubos esmerilados que contienen 15 cm³ de CH₂Cl₂ y se mantienen con agitación a 37°C durante 24h. Al cabo de este tiempo, el hilo se cambia a otro tubo con 15 cm³ que contiene nuevo CH₂Cl₂ y se continuó la extracción con el disolvente, durante una semana. Finalizado este periodo, se evaporó a sequedad el CH₂Cl₂ de las dos extracciones. Al residuo obtenido seco obtenido se añadió cuidadosamente con una pipeta 10 cm³ de etanol del 96 %. Se tapó bien para evitar la reducción de volumen de líquido, y se pinchó directamente en el HPLC.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.3 (numérica) y en la figura 5.3 (gráficamente). Cada valor es el resultado de dos procesos de evaporación en el rotavapor (dos muestras por sutura), y a su vez, cada muestra se inyecta por duplicado en el HPLC. Los datos obtenidos del programa Empower Login (HPLC) se pasan a µg/ml gracias a la recta de calibrado.

Horas de Carga	Incorporación de triclosan, µg/ cm ³			Incorporación de triclosan, µg /g		
	2%	5%	10%	2%	5%	10%
0,5	2,59 ±0,07	4,69 ±0,26	10,15 ±0,25	1788,67 ± 49,05	3315,96 ± 178,69	6999,09 ± 172,14
1	3,12 ±0,12	5,15 ±0,84	13,99 ±0,16	2152,30 ± 79,57	3362,38 ± 579,20	9644,84 ± 112,97
2	3,62 ±0,04	7,87 ±0,03	19,21 ±0,06	2493,84 ± 30,09	5428,91 ±17,92	13248,18 ± 44,65
4	6,09 ±0,16	10,83 ±1,09	23,83 ±1,16	4197,74 ± 107,10	7774,70 ± 748,14	15366,37 ± 797,60
8	6,90 ±0,12	12,96 ±0,55	32,06 ±0,36	4756,14 ± 82,16	10152,98 ± 379,28	18039,72 ± 248,73
16	7,56 ±0,37	15,78 ±0,21	41,11 ±0,16	5211,36 ± 256,81	10884,40 ± 144,61	28693,77 ± 108,81
24	8,42 ±0,09	17,32 ±0,10	42,16 ±0,90	5806,99 ± 63,41	11947,18 ± 71,39	29075,67 ± 622,89

Tabla 5.3. Contenido en Triclosan [(µg/cm³) y (µg/g sutura)] de los hilos cargados en la matriz polimérica. Valores promedio de incorporación total (Media ± desviación estándar; n=4).

Para expresar los contenidos de triclosan por gramo de sutura se pesaron varios trozos de hilo de 5 cm. Se encontró un valor promedio de 0'0145g / 5cm de sutura, que será el utilizado a lo largo de todo este Trabajo.



Cuando se representa el contenido en TCS de los hilos en función de la concentración del baño y del tiempo de carga, se obtienen las curvas mostradas en la figura 5.3. En ella puede observarse como el contenido de triclosan en los hilos es función de la concentración de fármaco en el baño y del tiempo de inmersión del hilo.

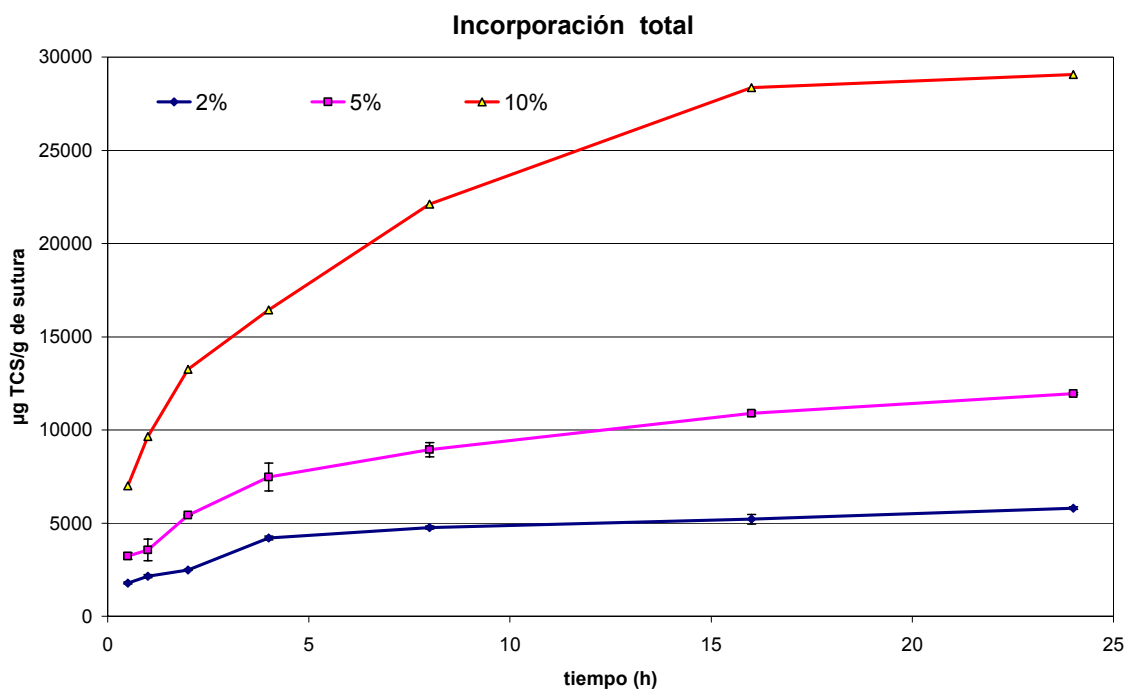


Figura 5.3. Contenido en triclosan de los hilos en función del tiempo de carga.

El examen de la gráfica 5.3 indica que en el intervalo 7-10 horas de carga alcanzamos la mejor relación de eficiencia tiempo-cantidad de triclosán incorporado al hilo. Aún así, en cargas con disoluciones del 10% aún se incorpora un 24% más de fármaco si aumentamos a 24h el tiempo de carga, dato relevante para una sutura monofilar. Vemos además que al cabo de un cierto tiempo, el hilo se satura de fármaco, deteniendo el proceso de incorporación. El tiempo de saturación depende de la concentración del baño. Se puede también observar la proporcionalidad entre la carga de la sutura y la concentración del baño de triclosan en que se introdujo.

Estos valores de incorporación de triclosan al hilo son importantes para los estudios de cinética del próximo apartado 7, pues indican la cantidad máxima de triclosan que puede salir por difusión hacia la disolución utilizada como medio de liberación.



Ibuprofen in loading bath	Exposure time	Ibuprofen incorporated	
		$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-1}$
2	2 min	246 ± 10	0.7 ± 0.0
2	30 min	367 ± 12	1.1 ± 0.0
2	1 h	483 ± 14	1.4 ± 0.0
2	2 h	570 ± 13	1.7 ± 0.0
2	8 h	830 ± 21	2.4 ± 0.1
2	24 h	$1\,124 \pm 20$	3.3 ± 0.1
5	2 min	403 ± 10	1.2 ± 0.0
5	30 min	$1\,030 \pm 8$	3.0 ± 0.0
5	1 h	$1\,221 \pm 10$	3.5 ± 0.0
5	2 h	$1\,376 \pm 9$	4.0 ± 0.0
5	8 h	$1\,603 \pm 14$	4.6 ± 0.0
5	24 h	$1\,923 \pm 15$	5.6 ± 0.0
10	2 min	538 ± 11	1.6 ± 0.0
10	30 min	$1\,209 \pm 19$	3.5 ± 0.1
10	1 h	$1\,460 \pm 24$	4.2 ± 0.1
10	2 h	$1\,610 \pm 29$	4.7 ± 0.1
10	8 h	$2\,202 \pm 32$	6.4 ± 0.1
10	24 h	$2\,729 \pm 30$	7.9 ± 0.1

Tabla 5.4. Cantidad de ibuprofeno incorporada en monofilamentos de poli(p-dioxanona).

Es interesante comparar los valores de carga de triclosan obtenidos en este PFC con los datos de carga de ibuprofeno obtenidos en la publicación de R. Zurita *et al.*, figura 5.4. Del examen de ambas tablas se llega a la conclusión de que los hilos de PDS incorporan, a igualdad de condiciones de carga, mayor cantidad de triclosan que de ibuprofeno. Así, tras 8 h en baños al 2%, se incorporan por gramo de sutura $\sim 830 \mu\text{g}$ de ibuprofeno y $\sim 4756 \mu\text{g}$ de triclosan. Tras 24h en baños al 5 % las cantidades por gramo de hilo son $\sim 1923 \mu\text{g}$ de ibuprofeno y $\sim 11948 \mu\text{g}$ de triclosan. Finalmente, después de 2h en baños al 10 %, los contenidos son $\sim 1610 \mu\text{g}$ de ibuprofeno y $\sim 13248 \mu\text{g}$ de triclosan.



6 Liberación controlada en tampón fostato

Los estudios de liberación se llevaron a cabo sumergiendo trozos de hilo de 5 cm en 30 ml de medio de liberación en frascos cerrados de 100 mL. Estos frascos se mantuvieron a una temperatura de 37°C en una estufa OVAN con agitaciones orbitales constantes a 60 rpm. Se utilizaron dos medios de liberación:

- 1) tampón Sorënsen pH 7,4;
- 2) Una mezcla 75:25 de tampón Sorënsen pH 7,4 y etanol de 96°.

La preparación de estos medios de liberación se detalla en el apartado A.1.1. del *anexo A: Materiales y métodos*.

Donghwan Chung *et al* estudiaron, por HPLC, la liberación de triclosan en etanol acuoso desde un copolímero de estireno-acrilato empleado como material de empaquetado de alimentos [8]. Como consecuencia de la lectura de este trabajo, además del medio habitualmente utilizado (Sörensén pH 7'4), decidimos estudiar la liberación en un segundo medio utilizando una mezcla Sörensén/etanol en proporción 75:25. Con este segundo medio pretendemos favorecer la salida de triclosan (hidrófobo) desde el interior de la sutura. Sin embargo, no se utilizó n-heptano, sugerido en el trabajo citado, para simular medios grasos, pues la PDO, al tener una degradación tan lenta, no se emplea en operaciones subcutáneas.

6.1. Hilos cargados en baños al 2% de triclosan w/v

Los valores medios ($\mu\text{g/g}$ de sutura) correspondientes al triclosan liberado a partir de los hilos menos cargados se muestran en las tablas 6.1 y 6.2:

2% de triclosán (w/v) en baño. Liberación en SORENSEN					
Tiempo (h)	SR2%01L	SR2%02L	Tiempo (h)	SR2%08L	SR2%24L
8	779,42 \pm 25,08	802,48 \pm 13,51	1	1354,69 \pm 76,77	1848,32 \pm 3,84
24	920,98 \pm 27,38	972,59 \pm 23,44	3	1430,94 \pm 12,62	1952,87 \pm 21,18
48	1048,89 \pm 56,45	1129,51 \pm 23,45	8	1555,17 \pm 16,82	2065,11 \pm 22,27
102	1065,33 \pm 38,50	1155,78 \pm 17,66	24	1604,54 \pm 13,74	2113,97 \pm 2,97
145	1123,00 \pm 53,99	1206,58 \pm 30,24	48	1625,04 \pm 17,14	2118,04 \pm 26,50
288	1208,56 \pm 62,82	1361,46 \pm 70,62	100	1784,24 \pm 19,76	2174,44 \pm 23,57
384	1349,67 \pm 119,67	1405,19 \pm 68,98	197	1817,73 \pm 42,70	2194,44 \pm 27,43
500	1367,215 \pm 98,370	1459,853 \pm 8,82	411	1852,84 \pm 39,99	2203,66 \pm 37,34
Carga Total	2152,30 \pm 79,56	2493,84 \pm 30,09	Carga Total	4756,14 \pm 82,16	5806,99 \pm 63,41

Tabla 6.1. Triclosan liberado ($\mu\text{g/g}$ sutura) en Sörensén. Se incluyen los valores de la carga total del hilo.



En la última fila se muestra, a título comparativo, el contenido total de triclosan cargado en el hilo. Al cotejar los valores de liberación y carga encontramos que la cantidad de fármaco liberado es notablemente inferior a la existente en el hilo. Este hecho permite sugerir que en la liberación de triclosan en este medio, se alcanza una situación de equilibrio como el ya observado en la liberación de ibuprofeno desde hilos de PDO [2].

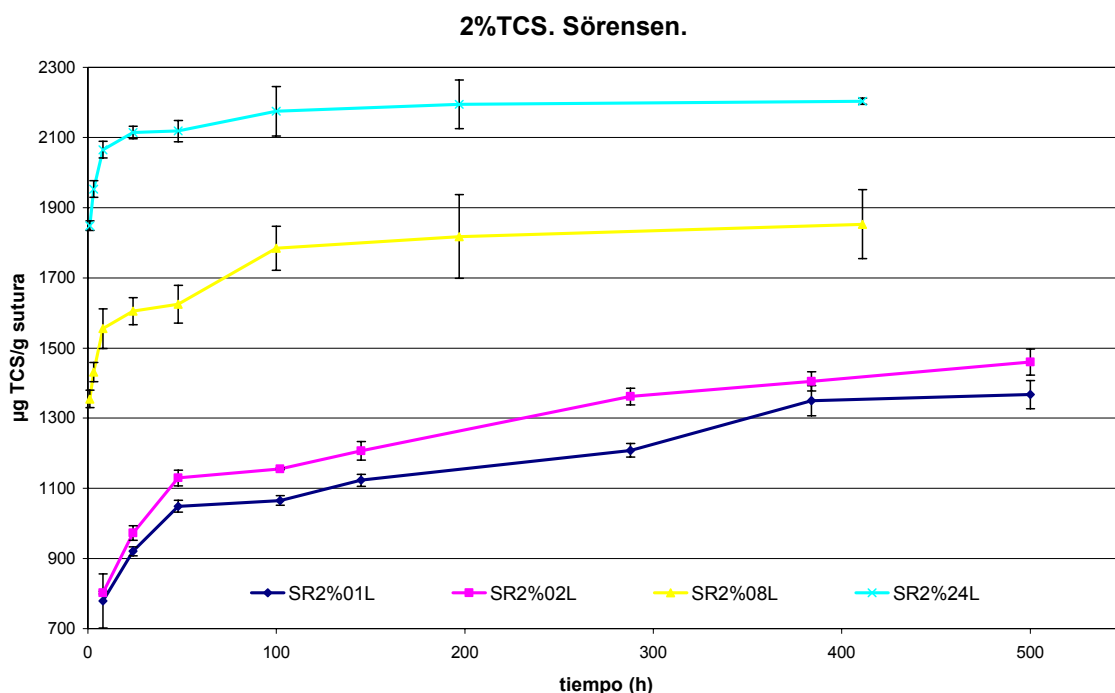


Figura 6.1. Liberación en Sörensen de hilos cargados en una solución al 2% de TCS a distintos tiempos (1-24h).

La representación gráfica de los datos de la tabla anterior permite apreciar claramente la situación de equilibrio que se alcanza a los pocos días iniciado el proceso de liberación. Las moléculas de triclosan quedan atrapadas en la matriz del polímero a causa de la baja solubilidad del triclosan en el medio acuoso y de la reducida capacidad de hinchamiento del medio Sörensen, en comparación con el diclorometano.

La cantidad de fármaco que se libera al medio aumenta cuando al tampón Sörensen se hace más lipófilo por adición de etanol. A continuación se muestran los datos obtenidos de la liberación medio en Sörensen al 75% y su correspondiente representación gráfica:



2% de triclosán (w/v) en baño. Liberación en SORENSEN- ETANOL [75:25]					
Tiempo (h)	SR2%01L	SR2%02L	Tiempo (h)	SR2%08L	SR2%24L
1	898,94 ±7,92	975,69 ±17,42	9	1575,50 ± 58,13	1716,39 ±147,21
3	1016,11 ±9,79	1048,28 ±63,92	24	2153,06 ±100,90	2573,19 ±208,41
9	1216,65 ±16,12	1316,93 ±39,30	48	2715,66 ±48,18	2870,45 ±123,15
24	1383,40 ±35,58	1877,95 ±48,27	102	3417,57 ±254,97	3585,90 ±188,79
77	1611,08 ±146,02	1960,86 ±23,96	145	3751,17 ±116,94	4085,02 ±94,95
104	1665,54 ±135,02	2035,33 ±28,49	288	5035,17 ±175,18	5495,87 ±61,82
194	1843,03 ±9,07	2200,75 ±103,82	414	5263,76 ±236,30	5734,334±114,40
457	2050,80 ±16,70	2411,99 ±249,85	--	--	--
Carga Total	2152,30 ± 79,57	2493,84 ± 30,09	Carga Total	4756,14 ± 82,16	5806,99 ± 63,41

Tabla 6.2. Triclosan liberado ($\mu\text{g/g}$ sutura) en Sörensen-etanol. Valores promedio (Media \pm desv. estándar; $n=4$)

2%TCS. Sörensen-etanol.

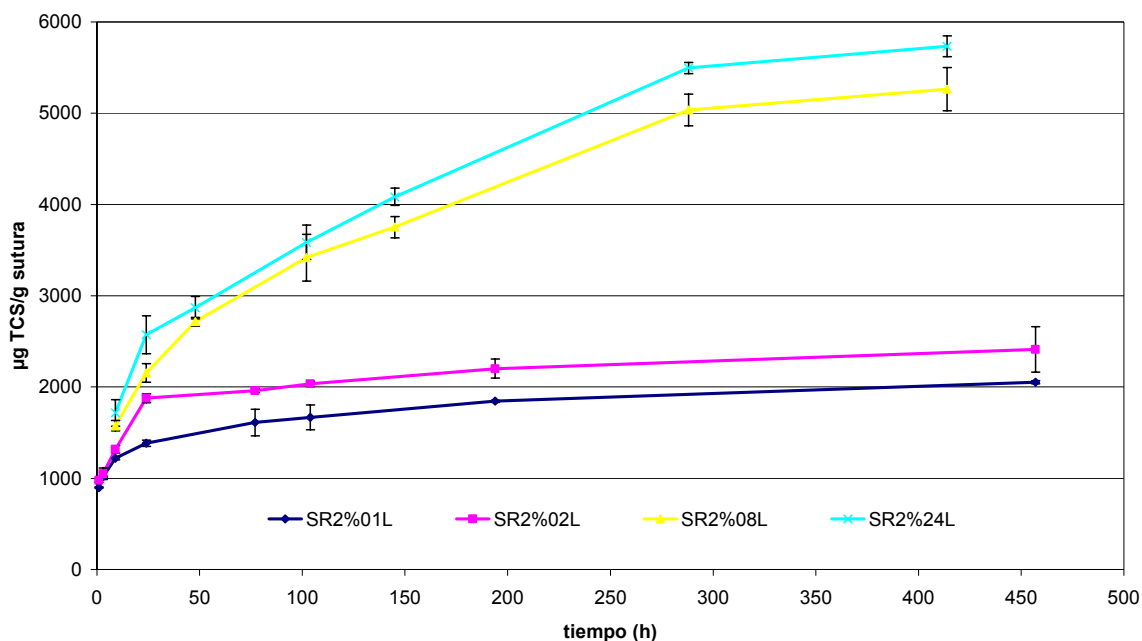


Figura 6.2. Liberación en Sörensen-etanol de hilos cargados al 2% de TCS a distintos tiempos (1-24h).



6.2. Hilos cargados en baños al 5% de triclosan w/v

Conforme aumenta el contenido de triclosan en el baño de carga, mayor son los contenidos de fármaco en el hilo y, en consecuencia, más cantidad de antibacteriano se libera al medio. La tabla 6.3 y la figura 6.3 ponen de manifiesto que con esta concentración de triclosan en el baño se obtuvieron resultados que reflejan una buena proporcionalidad entre carga y cantidad liberada:

5% de triclosán (w/v) en baño. Liberación en SORENSEN						
Tiempo (h)	SR5%01L	Tiempo (h)	SR5%04L	SR5%08L	Tiempo (h)	SR5%24L
1	1788,31 ±22,11	1	2029,58 ±61,18	2038,13 ±133,11	2	2164,00 ±3,72
3	1956,81 ±25,09	3	2168,13 ±121,96	2410,36 ±95,24	4	2428,14 ±9,59
8	2095,12 ±21,39	8	2415,91 ±43,22	2457,87 ±176,73	9	2999,78 ±164,94
26	2310,80 ±79,51	24	2943,39±172,50	4137,02 ±601,77	25	4396,95 ±118,78
55	2502,74 ±45,32	98	3662,04 ±12,13	4747,55 ±133,91	99	5603,52 ±46,23
100	3043,56 ±17,56	244	3866,61 ±303,40	5003,61 ±92,22	245	5997,79 ±33,99
195	3198,65 ±121,59	412	4161,12 ±215,27	5229,41 ±214,00	412	6253,82 ±175,29
388	3370,89 ±142,05	550	4362,02 ±68,56	5620,42 ±61,61	--	--
Carga Total	3362,38 ± 579,20		7774,70 ± 748,14	10152,98 ± 379,28		11947,18 ± 71,39

Tabla 6.3. Triclosan liberado (µg/g sutura) en Sörensen. Valores promedio (Media ± desviación estándar; n=4)



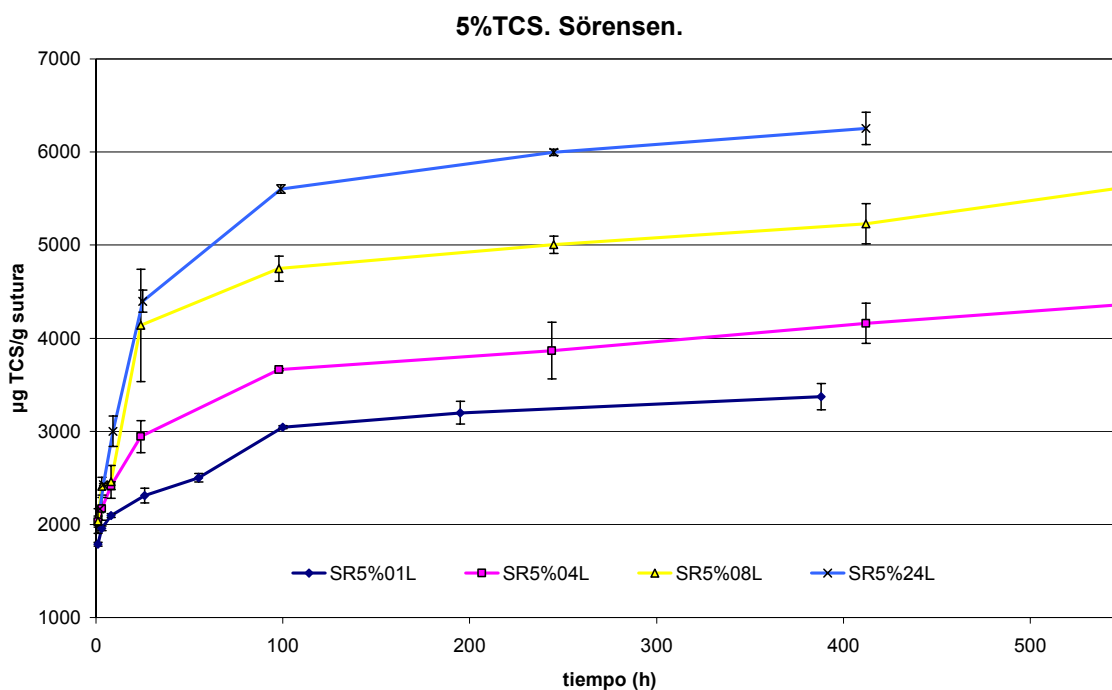


Figura 6.3. Liberación de hilos cargados al 5% de triclosan en Sörensen según tiempos de carga (1-24h)

Con el fin de comprobar si es factible cargar los hilos, almacenarlos y estudiar posteriormente, introdujimos una variable: cargamos las suturas al 5 % durante 4 horas por duplicado (es decir, cuatro), conservamos dos de ellas durante dos meses y repetimos el estudio de liberación, pero en Sörensen-etanol. En la leyenda, las muestras cuya liberación fue pospuesta se indica añadiendo al acrónimo un *bis*. Naturalmente las muestras fueron guardadas en condiciones similares a las envasadas comercialmente, sin contacto con la humedad.



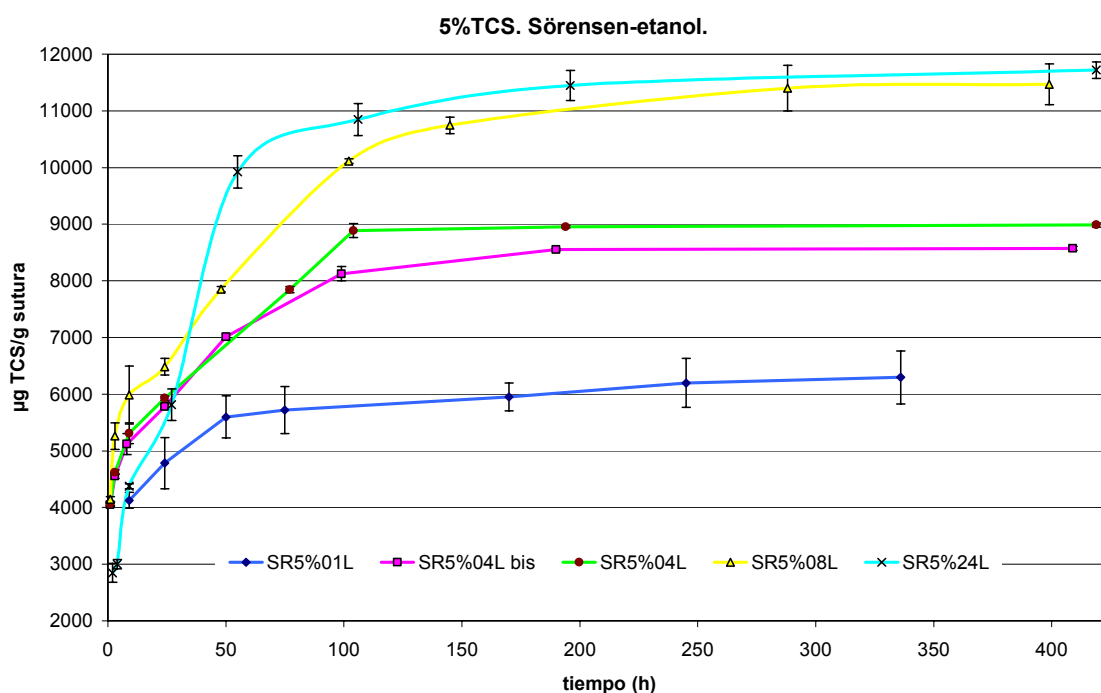


Figura 6.4. Liberación de hilos al 5% de triclosán en Sorensen-Etanol según tiempos de carga (1-24h)

5% de triclosán (w/v) en baño. Liberación en SORENSEN- ETANOL [75:25]									
Tiempo (h)		9	24	50	75	170	245	336	--
SR5%01L	Media	4128,2	4785,7	5599,0	5718,2	5951,2	6198,3	6297,2	--
	Desv. est	141,67	452,83	372,77	413,45	242,9	432,94	467,54	--
Tiempo (h)		1	3	9	24	77	104	194	419
SR5%04L	Media	4071,9	4620,0	5312,0	5927,6	7844,2	8886,8	8953,8	8986,6
	Desv. Est	31,98	40,60	185,00	35,01	51,83	125,68	22,03	36,28
Tiempo (h)		1	3	8	24	50	99	190	409
SR5%04L bis	Media	4050,2	4553,0	5119,4	5783,8	7014,9	8125,7	8554,5	8573,3
	Desv. Est	142,34	185,86	109,63	25,64	71,41	571,36	57,87	102,93
Tiempo (h)		3	9	24	48	102	145	288	399
SR5%08L	Media	5261,9	5987,9	6485,1	7850,3	10113,4	10744,6	11402,8	11469,5
	Desv. est	235,77	510,72	145,46	47,94	41,18	144,66	401,69	362,47
Tiempo (h)		2	4	9	27	55	106	196	419
SR5%24L	Media	2846,4	3001,6	4376,3	5813,9	9922,6	10847,1	11450,9	11718,2
	Desv.	165,53	79,86	45,08	280,57	284,98	282,07	265,52	144,85

Tabla 6.4. Triclosan liberado (µg/g sutura) en Sörensen-etanol. Valores promedio (Media± desviac. Estánd; n=4)



En el estudio de carga a 24h vemos claramente que el fármaco no sobrepasa los valores del tiempo de carga menor (8h), inexplicablemente, hasta las 40h de liberación. Además de la variabilidad, las moléculas de triclosan pueden impedirse unas a otras en la salida del polímero.

Para ilustrar la influencia del medio, tampón Sörensen 100 % ó mezcla con etanol, en la liberación del triclosan, en la figura 6.5 se representan conjuntamente las curvas correspondiente a hilos cargados al 5 % y liberados en ambos medios. La hidrofobia del biocida queda patente, y se manifiesta más claramente con cargas mayores de fármaco, donde el equilibrio químico de concentración facilita la salida de triclosan (con límite de solubilidad en agua de 10-17 mg/L).

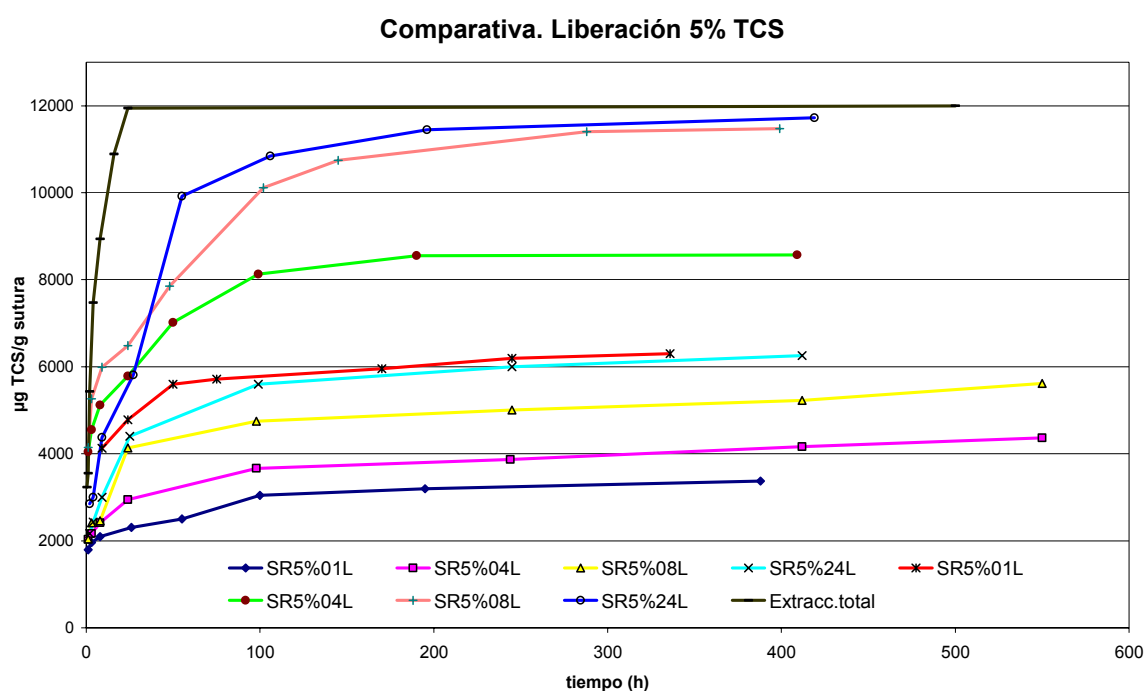


Figura 6.5. Comparativa de liberación de hilos cargados al 5% de TCS según medio.

6.3. Hilos cargados en baños al 10% de triclosan w/v

Al comprobar que los resultados son mejores en tampón fosfato al 75% en los estudios del 2 y 5% de triclosan, decidimos estudiar la liberación en los hilos cargados al 10% sólo en el medio Sörensen-etanol [75:25] (25%). Los valores obtenidos se muestran en la tabla 6.5, y se representan gráficamente en la figura 6.6:



10% de triclosan (w/v) en baño. Liberación en SORENSEN- ETANOL [75:25]							
Tiempo (h)	SR10%01L	Tiempo (h)	SR10%04L	SR10%08L	Tiempo (h)	SR10%24L	SR10%24L Bis
1	2961,96 ±124,62	1	3311,29 ±159,40	3567,83 ±73,97	1	3228,22 ±217,39	2328,00 ±60,61
3	3353,59 ±35,15	3	4328,27 ±72,79	4507,59 ±75,98	2,5	4607,31 ±81,63	3439,86 ±10,51
8	4155,57 ±123,59	8	6554,38 ±406,28	6800,49 ±264,54	8	7996,33 ±40,32	5873,29 ±125,11
26	4927,11 ±79,30	26	9411,45 ±231,64	10095,34 ±95,19	24,5	12559,11 ±20,30	9333,57 ±17,85
55	6741,14 ±134,84	56	14279,83 ±306,37	15432,31 ±124,35	48	16260,05 ±49,52	12002,97 ±69,68
100	6886,00 ±161,10	105	15156,99 ±143,79	15521,90 ±235,17	96	19426,33 ±61,47	15115,00 ±2,88
195	7098,45 ±434,87	195	16320,82 ±230,93	16371,76 ±1293,46	217	21048,31 ±158,94	16902,30 ±104,09
388	7453,06 ±383,63	418	15865,62 ±927,21	17654,76 ±480,02	405	21349,44 ±15,26	17587,52 ±500,72
Carga Total	9644,84 ± 112,97		15366,37 ± 797,60	18039,72 ± 248,73		29075,67 ± 622,89	Carga Total

Tabla 6.5. Triclosan liberado ($\mu\text{g/g}$) en Sörensen-etanol. Valores promedio (Media \pm desviac. estándar; $n=4$)

Al cargar las suturas en baños al 10 % se obtienen concentraciones elevadas de fármaco en el hilo que oscilan entre el 0,9 % para una hora de carga y 2,9 % correspondientes a hilos cargados durante 24h. A estas altas concentraciones de hilo en sutura corresponden lógicamente elevadas concentraciones de antibacteriano en el medio.

Los experimentos de liberación se realizaron en frascos que contenían 30 mL de medio. El medio fisiológico real humano se encuentra en continuo flujo, y en este medio fisiológico creemos que no alcanzaría la disolución no se llegaría nunca a saturar (al no establecerse el equilibrio), de forma que obviaremos que el 10% es la mejor de las opciones.



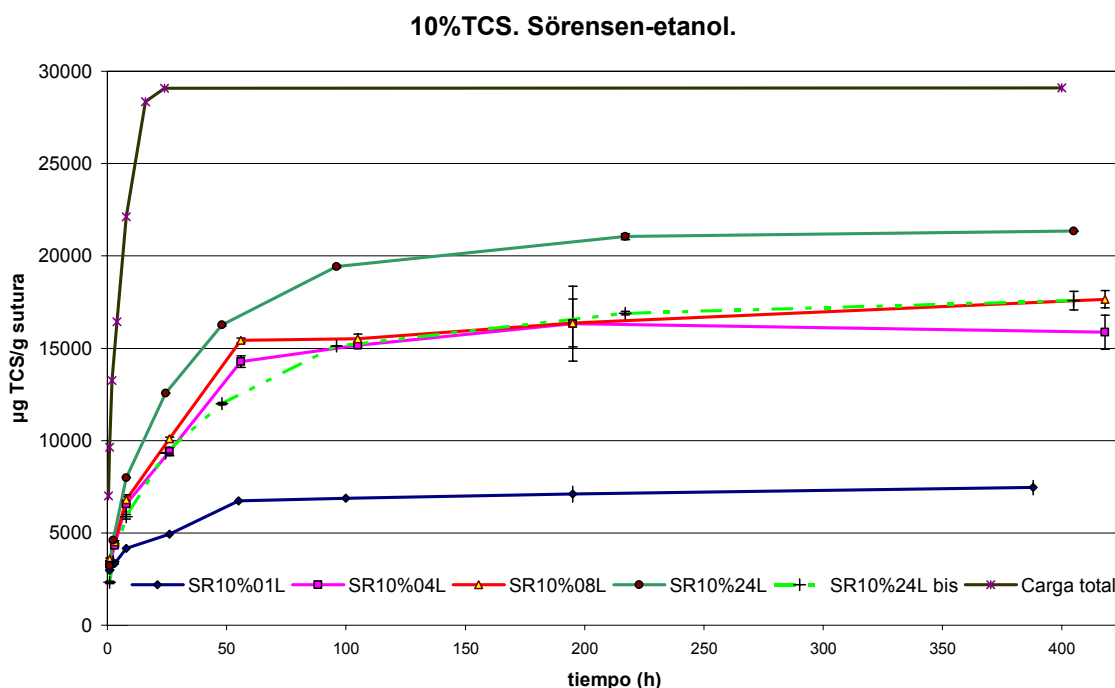


Figura 6.6. Liberación de hilos cargados al 10% de TCS en Sörensen-etanol según tiempos de carga (1-24h)

También destacamos que, de las dos suturas cargadas durante 24h, hemos representado gráficamente la más alta, siendo la otra la línea punteada C:24H bis. Razonamos así que, con baños de porcentaje elevado de fármaco, la posibilidad de fallo en el proceso de carga crece. De todas formas, la reducción de carga se equipara a la de 8 horas, cuya desviación estándar empieza a ser ya representativa.

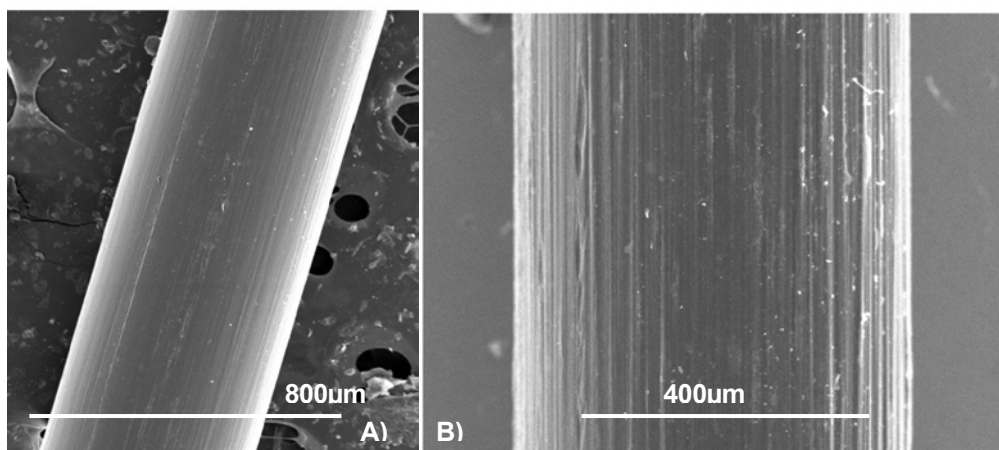


Figura 6.7. Sutura SR10%24L: A) sin liberar TCS y, B), a las 7 semanas de liberación.

Se han obtenido fotografías en un microscopio electrónico de barrido, figura 6.7, correspondientes a la superficie del hilo cargado, antes y después de 49 días de liberación.



Las imágenes muestran que la superficie del hilo permanece sin cambios y que no hay indicios externos de degradación. El diámetro de la sutura cambió de 542 a 550 micras, lo que indica una determinada absorción de agua por parte del polímero.

Como se comentó al final del apartado 5.1.2, al comparar las cargas de nuestros hilos conteniendo triclosan con los que llevan ibuprofeno y que describen Zurita *et al* [1], se tiene la evidencia de que los hilos de PDO incorporan en su interior más triclosan que ibuprofeno. También es factible comparar los datos correspondientes a los apartados de liberación de fármaco desde ambos tipos de hilos. Para esta comparación son útiles los perfiles de liberación en Sørensen publicados por Zurita *et al* [1], en su artículo y que reproducimos en la figura 6.9.

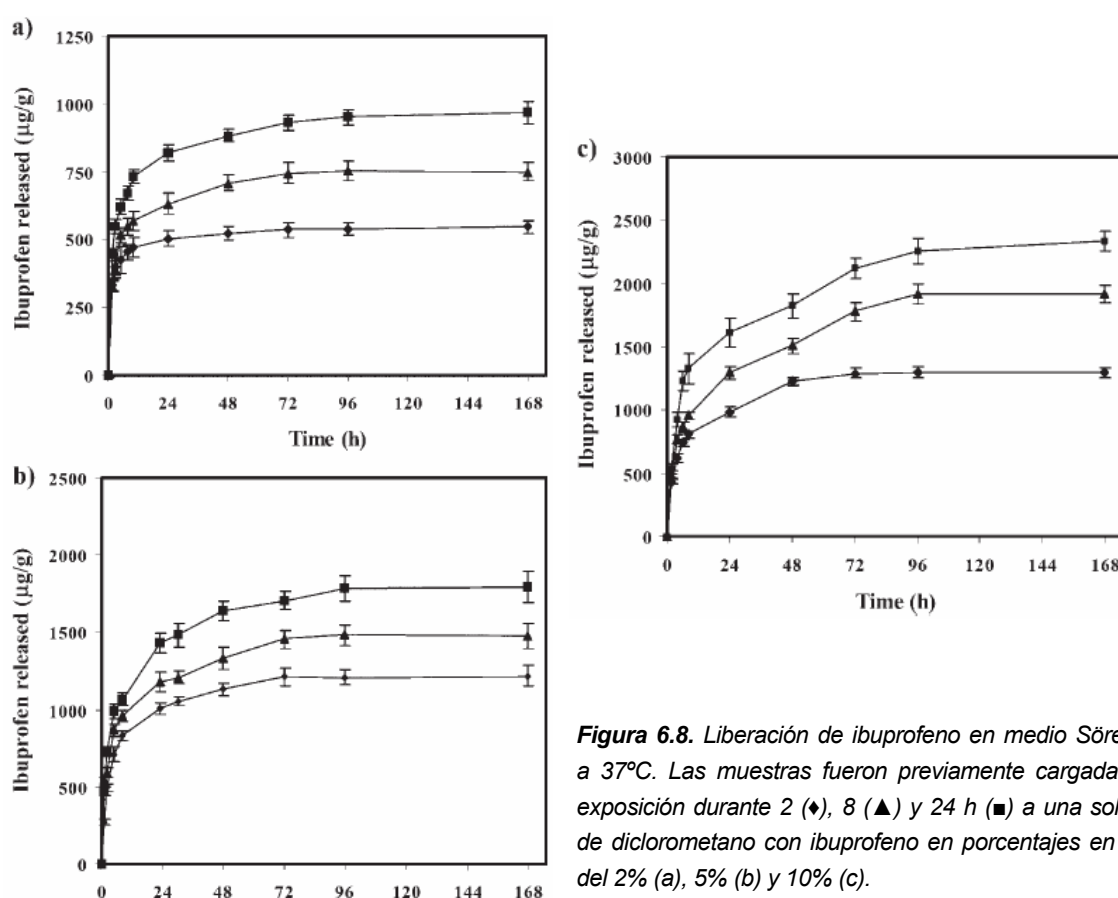


Figura 6.8. Liberación de ibuprofeno en medio Sørensen a 37°C. Las muestras fueron previamente cargadas por exposición durante 2 (♦), 8 (▲) y 24 h (■) a una solución de diclorometano con ibuprofeno en porcentajes en peso del 2% (a), 5% (b) y 10% (c).

Para facilitar la comparación se ha elaborado la tabla 6.6 en la que se recogen datos representativos de la liberación de hilos cargados y liberados en condiciones similares. Claramente los hilos con triclosan liberan mucho más fármaco al medio que los hilos cargados con ibuprofeno.



Fármaco total liberado, µg/g, en medio Sörensen a partir de suturas cargadas durante 24 h			
	Solución de carga al 2%	Solución de carga al 5 %	Solución de carga al 10 %
Triclosan	~ 2200	~12000	~ 21350 / 17590 ^a
Ibuprofeno	~ 1000 ^b	~ 1750 ^b	~ 2300 ^b

(a): Como no se realizó la liberación en Sörensen, este dato numérico corresponde al medio Sörensen-etanol.

(b): Valores numéricos obtenidos a partir de los graficos mostrados en la figura 6.9.

Tabla 6.6. Comparación del triclosan y del ibuprofeno liberados a partir de hilos de PDO cargados en condiciones análogas.

6.3.1. Suturas sin lavar

En los estudios de liberación anteriores hemos utilizado suturas lavadas externamente, puesto que queríamos cuantificar unicamente el triclosan incorporado en la matriz del hilo. Con el objetivo de determinar la cantidad de triclosan que queda adherida a la superficie de la sutura, hemos realizado también estudios de liberación de hilos sin lavar. Se debe tener en cuenta que, en la preparación comercial de los hilos, el lavado es una etapa que genera un gasto monetario y de tiempo innecesario, y por tanto es previsible que no se lleve a cabo.

Hemos escogido suturas preparadas en baños al 10% y tiempos de inmersión reducidos. De esta forma, el empleo de baños concentrados aproximaría el tiempo de inmersión a las condiciones de un potencial proceso industrial. Los datos obtenidos se representan en la tabla 6.7 y en la gráfica 6.9.

10% de triclosan (w/v) en baño. Liberación en SORENSEN- ETANOL [75:25]			
Tiempo (h)	SR10%20mSL	SR10%30mSL	SR10%60mSL
1	4247,75 ± 314,56	4531,26 ± 317,68	5895,74 ± 550,13
4	6183,14 ± 136,44	6794,07 ± 252,94	8083,67 ± 105,38
12	6440,01 ± 87,40	6880,81 ± 214,32	8825,34 ± 230,66
24	7163,35 ± 196,72	7488,81 ± 171,56	9812,14 ± 285,83
50	7253,80 ± 149,18	8044,94 ± 222,96	9949,01 ± 199,90
99	7391,23 ± 253,50	8182,28 ± 192,47	9922,28 ± 315,85
190	7460,05 ± 296,70	8637,98 ± 245,58	10158,46 ± 391,82
408	7607,91 ± 256,27	8699,97 ± 223,47	10294,47 ± 69,65

Tabla 6.7. Triclosan liberado (µg/g sutura) en Sörensen-etanol. Valores promedio (Media ± desviac. estándar; n=4).

Los datos de la tabla 6.7 muestran cantidades de triclosan liberadas al medio que son superiores a los obtenidos cuando se usan los correspondientes hilos lavados. Sin embargo,



cuando a los datos de la tabla 6.9 se le restan los valores de la liberación debida al triclosan interior, se llega a la conclusión que la aportación del fármaco depositado sobre la superficie no es muy importante. No obstante, consideramos que el hilo debe prepararse sin lavar puesto que como se comentó anteriormente, lavar el hilo supone un coste económico adicional en la preparación del hilo.

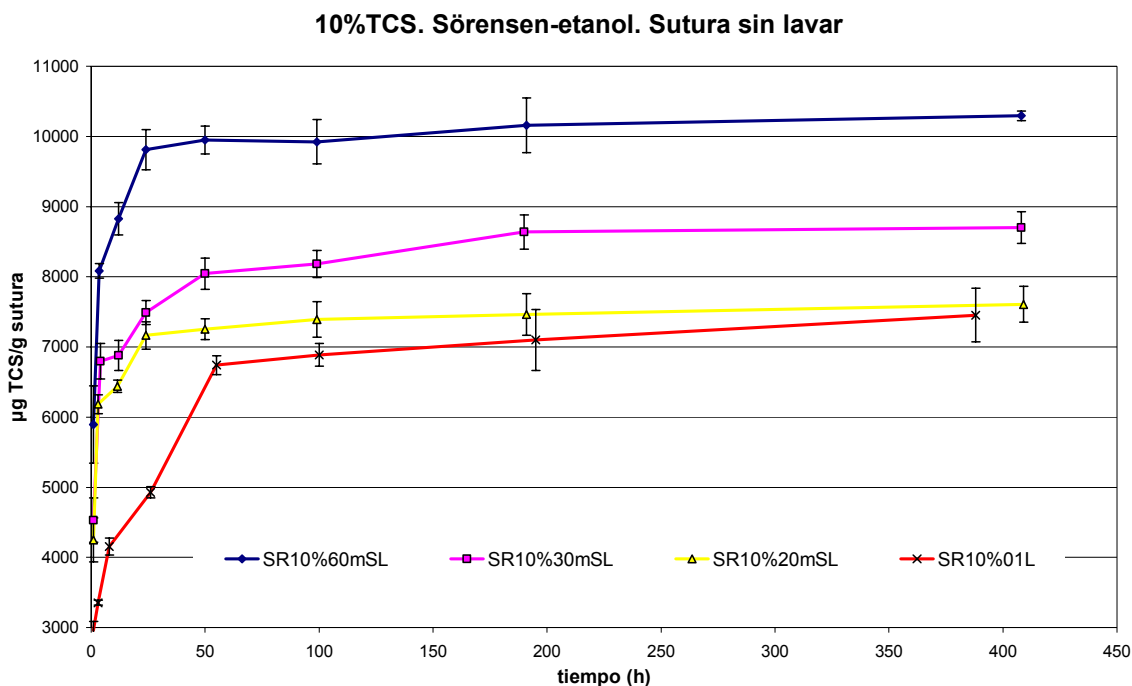


Figura 6.9. Liberación de hilos cargados al 10% de TCS en Sörensen-etanol según tiempos (1-24h)

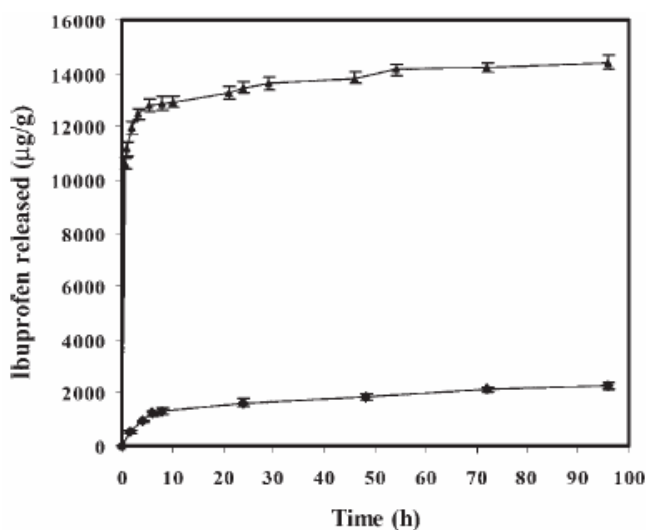


Figura 6.10. Liberación de ibuprofeno en medio Sörensen a 37°C desde filamentos de poli(p-dioxanona) lavados (♦) y sin lavar (▲) en acetato de etilo. Las muestras fueron previamente cargadas en una solución de diclorometano con ibuprofeno al 10% w/v durante 24h.



Observamos en los resultados de Zurita *et al* [2] que en el ibuprofeno existe un considerable efecto *burst*, que en el caso del triclosan es mucho menor. Con el ibuprofeno, el sistema tiende a un valor asintótico de $15000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ incorporado en la sutura no lavada, mientras que para la sutura lavada, el valor asintótico es de $2000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Con el triclosan, los valores equivalentes son 7000 y $10000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente. El efecto *burst* es mucho menor debido a la mayor carga de triclosan en el interior del hilo. A la derecha, en la figura 6.11, una sutura estudiada sin lavar.

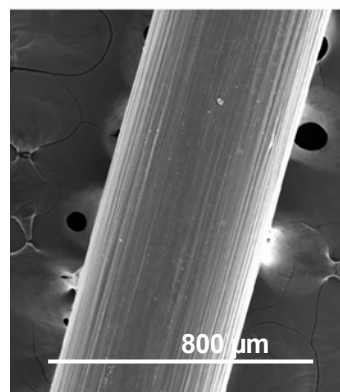


Figura 6.11. Hilo cargado al 10% de TCS y sin lavar. No se aprecian irregularidades superficiales.

6.4. Hilos con TCS en un recubrimiento al 3% w/v

Al realizar este experimento nos planteamos verificar si es factible desarrollar un recubrimiento regular en un hilo monofilar. Asimismo, pretendíamos comprobar si la cantidad de triclosan que se incorpora en el recubrimiento es mayor o menor que la que se carga en la matriz.

La metodología seguida para elaborar los recubrimientos requirió preparar un baño de diclorometano que contenía disuelto el triclosan y también el polímero que va a constituir el recubrimiento. Los hilos de PDO sin decolorar se sumergieron durante unos 10-30 segundos en el baño, y a continuación se mantuvieron suspendidos de unas pinzas hasta que se secó el recubrimiento. Se descartaron aquellos hilos que mostraba irregularidades en su capa superficie.

6.4.1. Recubrimientos de Policaprolactona

Las primeras experiencias la realizamos con recubrimientos de policaprolactona pura, un poliéster biodegradable que es soluble en diclorometano. A este recubrimiento se incorporaron dos cantidades diferentes de triclosan. Se presentan los resultados de la liberación de estos hilos en la tabla 6.8:



RECUBRIMIENTO de PCL. Liberación en SORENSEN- ETANOL [75:25]			
Tiempo (h)	R3%PCL5%	R3%PCL10%	R3%PCL10% bis
1	3458,75 ±20,09	6133,39 ±10,73	5492,86 ±140,80
3	4442,75 ±55,21	9068,28 ±56,72	5995,04 ±85,66
8	5521,78 ±549,87	11803,55 ±778,72	7223,16 ±46,50
25	7604,25 ±801,89	16970,71 ±85,37	8614,05 ±566,94
51	9063,75 ±1645,81	26733,54 ±1489,05	10074,37 ±193,64
104	9552,95 ±1264,38	28605,94 ±1310,96	10783,31 ±94,87
174	9965,19 ±1956,04	30025,55 ±564,49	13570,29 ±663,40
388	10866,28 ±237,55	31108,49 ±483,87	15965,74 ±264,18

Tabla 6.8. Triclosan liberado (µg/g) en Sörensens-etanol. Valores promedio (Media ± desviac. estándar; n=4).

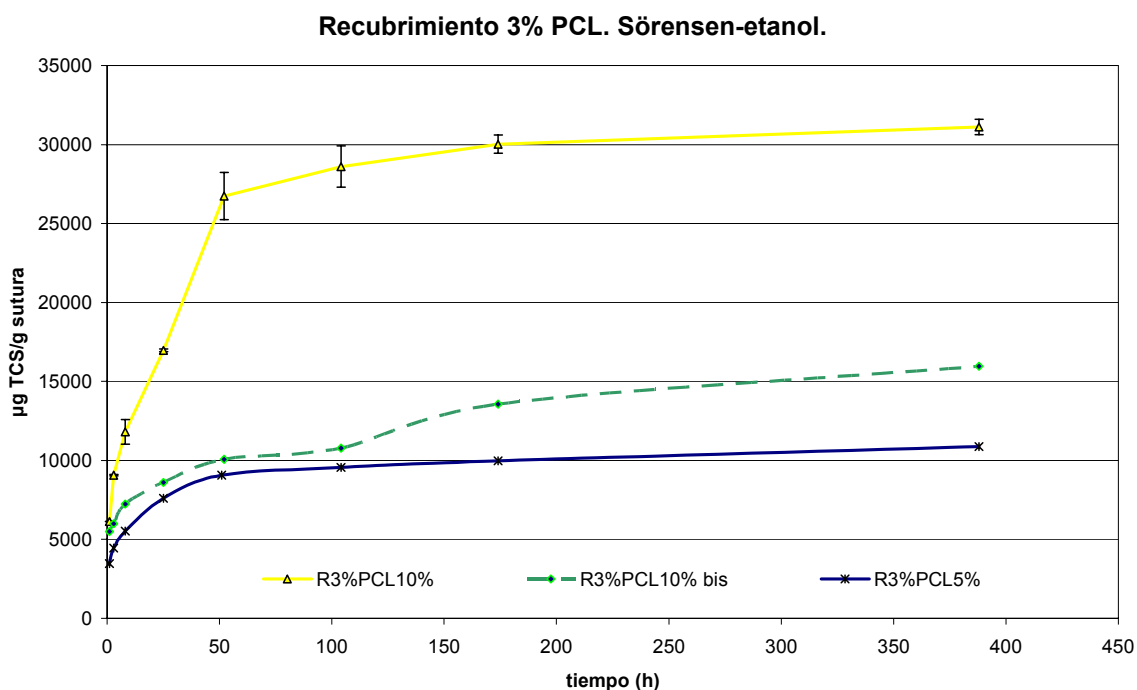


Figura 6.12. Liberación de TCS desde hilos con un 3% de recubrimiento de policaprolactona.

En la gráfica podemos ver diferencias entre los comportamientos de hilos cargados al 5 ó al 10% en el recubrimiento. Lógicamente el hilo cargado al 10% libera mucho más triclosan, sin embargo, los resultados obtenidos con el 10% son muy dispersos. Como muestra de esta variabilidad, representamos por separado las curvas de cada uno de los dos experimentos realizados. En cambio, en el recubrimiento del 5% de triclosan, los valores obtenidos son poco dispersos y los datos de ambas muestras pueden ser incorporados en la misma línea.



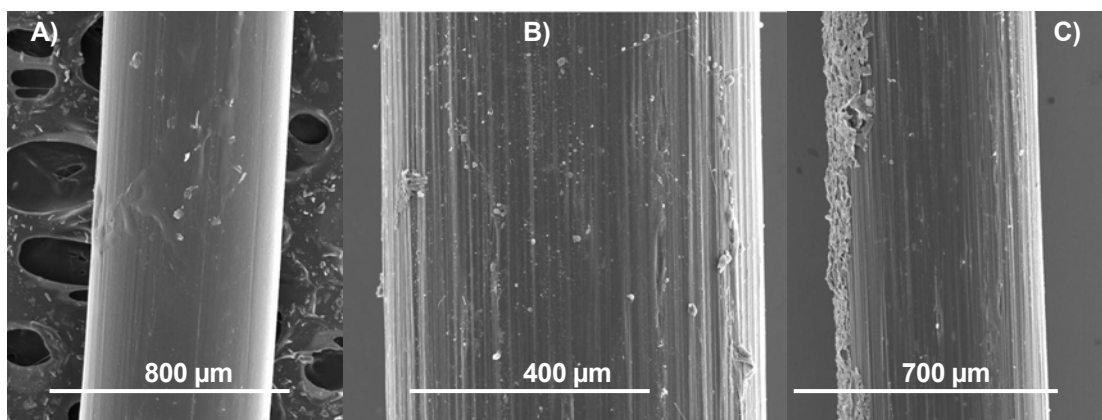


Figura 6.13. Recubrimiento R3%PCL10%: (A) sin liberar; (B) y (C) tras nueve semanas en el medio Sørensen-etanol.

Las fotografías del microscopio electrónico de la muestra **R3%PCL5%** (figura 6.13) permiten visualizar el aspecto del hilo recubierto. En a) se aprecia la uniformidad superficial del hilo, aunque también se ven pequeñas irregularidades. Tras nueve semanas de liberación (b y c), se aprecia un aumento de las irregularidades. En c) se observan desprendimientos en la superficie del film de policaprolactona.

6.4.2. Recubrimiento de Policaprolactona / Estearato de Magnesio

El segundo tipo de recubrimiento estudiado está formado por mezclas PCL/estearato de magnesio. El estearato de magnesio es un sólido blanco, de conocidas propiedades lubricantes, de amplio uso en la industria farmacéutica, y que asimismo, es soluble en diclorometano. Se prepararon dos recubrimientos de este tipo con el mismo contenido en triclosan y en los que se varió la relación PCL / estearato de magnesio. Los datos de la liberación en Sørensen-etanol se muestran en la tabla 6.9.

RECUBRIMIENTO de PCL/ Estearato de Magnesio		
Tiempo (h)	R[15-85%]5%	R[30-70%]5%
1	3135,13 ±111,04	3172,38 ±175,02
2,5	4527,70 ±37,44	4267,70 ±378,81
8	5571,56 ±37,32	5221,57 ±333,88
24,5	5982,12 ±76,56	5381,85 ±407,40
48	6177,01 ±100,08	5719,47 ±338,11
95,5	6234,68 ±49,83	5834,35 ±266,27
217	6255,60 ±64,50	6164,54 ±215,66
405	6279,42 ±168,20	5914,16 ±416,93

Tabla 6.9. Triclosan liberado (µg/g) en Sørensen-etanol. Valores promedio (Media ± desviac. estándar; n=4).



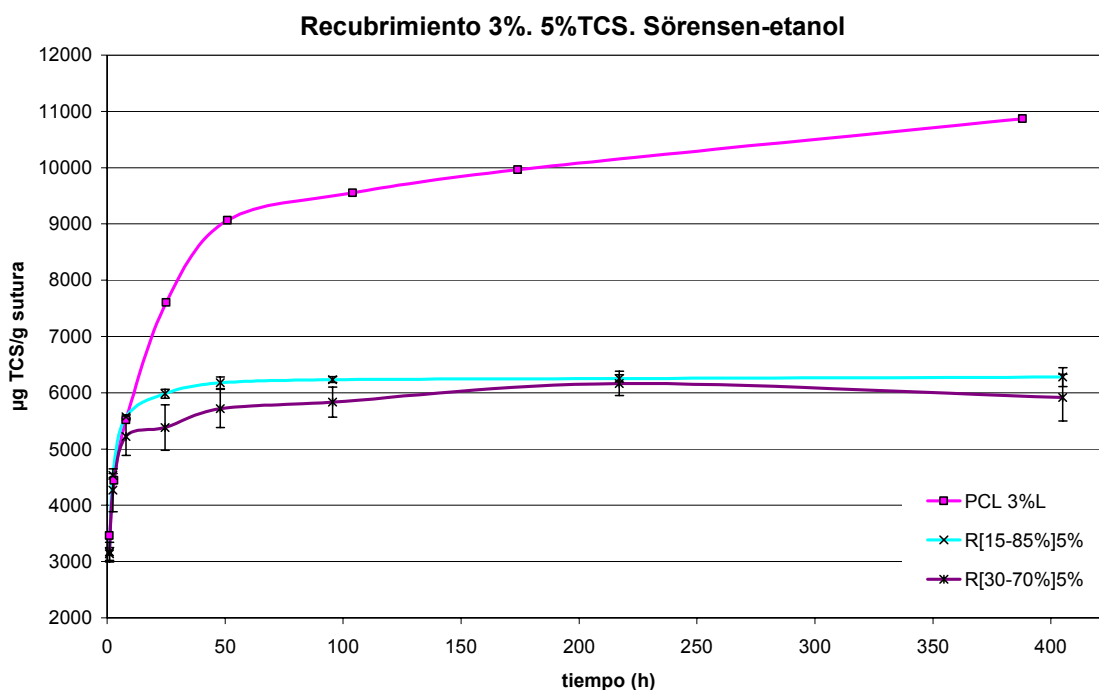


Figura 6.14. Curvas de liberación de hilos con recubrimiento que liberan cantidades de triclosan al medio.

El efecto de añadir estearato de magnesio al recubrimiento es una disminución notable de la cantidad de triclosan liberado, figura 6.14. Así, en el recubrimiento de PCL puro, el triclosan liberado alcanzó una concentración asintótica en el medio de $11000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, en tanto que en los recubrimientos PCL-estearato de magnesio sólo alcanzó valores próximos a $6000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Un aspecto importante es que, en las dos proporciones de estearato de magnesio ensayadas, apenas hay diferencias en la cantidad de triclosan liberado.

Las fotografías de SEM de la figura 6.15 muestran la superficie del recubrimiento PCL/estearato de magnesio, antes y después de la liberación del TCS. Se observa que la superficie es mucho más irregular que en el recubrimiento de PCL pura. Las fotografías parecen indicar que hay una cierta cantidad de estearato de magnesio que no se ha dispersado bien en la PCL y que forma partículas irregulares que quedan adheridas o englobadas parcialmente en la capa superficial de la sutura.

Como muestra la figura 6.16, los resultados obtenidos cuando se carga triclosan en el recubrimiento de un hilo de PDO son muy interesantes. Por una parte, la forma de las curvas de liberación es distinta a la del hilo sin recubrir. La pendiente inicial es mayor y más prolongada en hilos recubiertos, lo cual indica que el triclosan se libera más rápidamente.



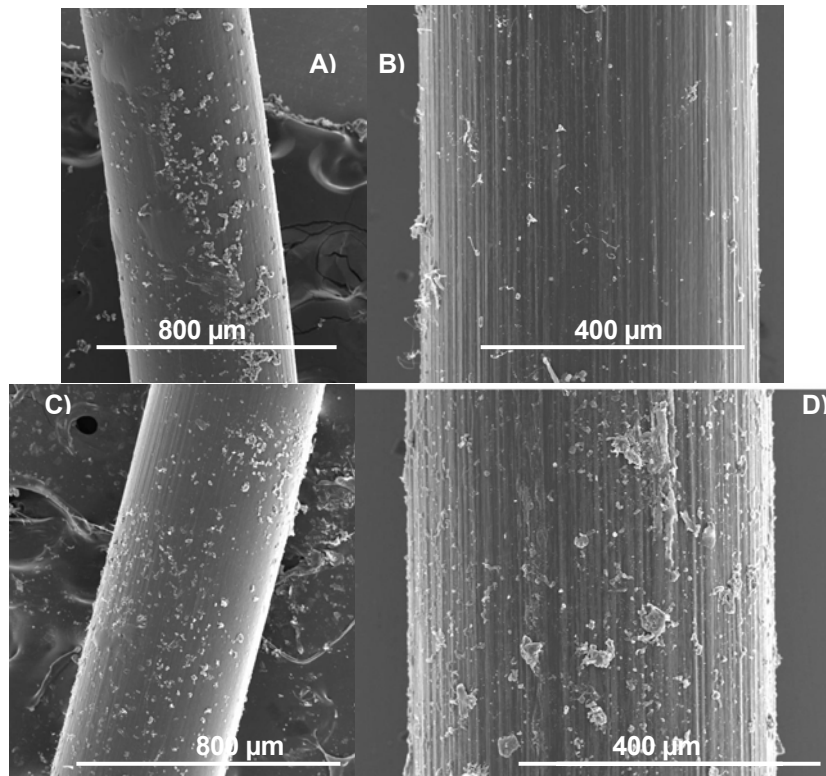


Figura 6.15. Arriba, A) y B) recubrimiento R[15-85%]5% y abajo, C) y D) recubrimiento R[30-70%]5%. Las de la izquierda corresponden a suturas sin iniciar liberación, y las derechas corresponden a 3 semanas después (recubrimiento intacto), finalizada la liberación.

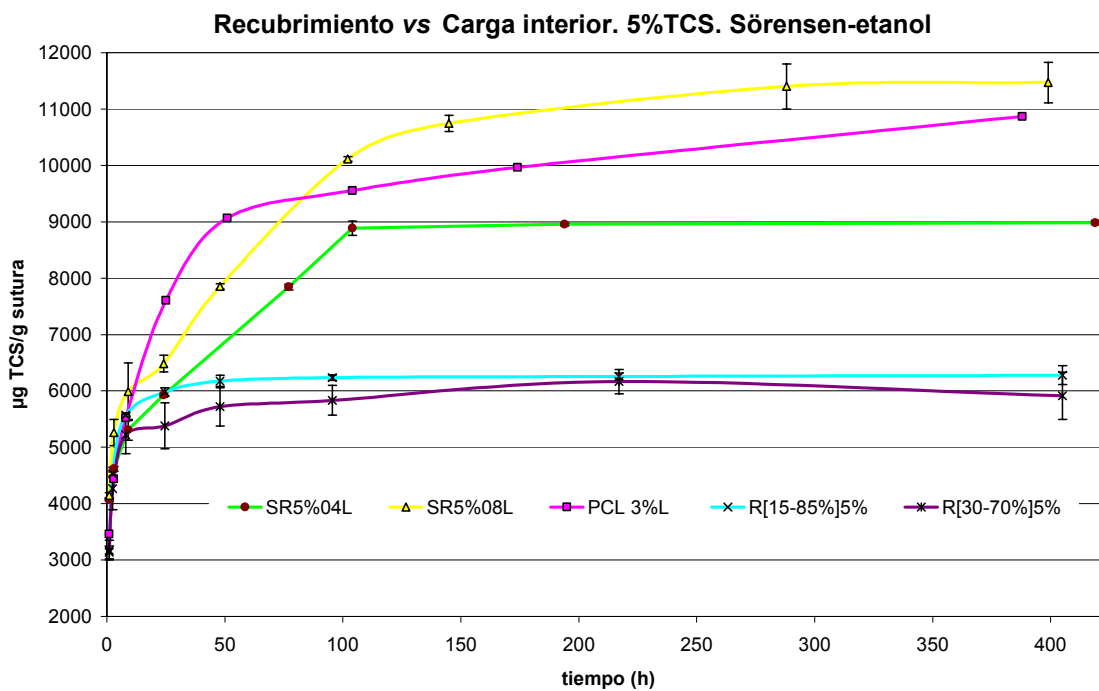


Figura 6.16. Curvas de liberación de hilos con recubrimiento e hilos sin recubrir que liberan cantidades de triclosan al medio.



Pero el aspecto más importante de la figura 6.16 es que la cantidad de triclosan liberado por hilos recubiertos en cuya preparación se invirtieron muy poco minutos es muy similar a la de hilos cargados en la matriz con un tiempo de carga de varias horas. Por ejemplo, si tomamos como referencia el hilo con recubrimiento de PCL pura, libera una cantidad de TCS de alrededor de $11.000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Este valor es ligeramente inferior a los $11.500 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ que libera un hilo que se cargó en su interior durante 8 horas y ligeramente superior a los $9.000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ liberados por un hilo cargado durante 4 horas. Como dato complementario indicaremos que la cantidad de TCS liberada por los dos recubrimientos PCL / estearato de magnesio, $6.000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, es prácticamente igual a la liberada por un hilo cargado durante 1 hora, cuya curva no se muestra en la figura 6.16.

Por último hay que hacer un comentario sobre la relativa dispersidad de valores que es inherente al procedimiento manual de realizar los recubrimientos. En nuestra opinión, los resultados serían menos dispersos con recubrimientos mucho más regulares y homogéneos que se obtendrían al realizarlos en un sistema automático, tal y como lo llevan a cabo actualmente las empresas que elaboran hilos de sutura multifilares recubiertas.

En la figura 6.17 vemos la interacción del medio de liberación con la matriz de poli(p-dioxanona). Se realizó un análisis de los componentes químicos de las partículas de tampón fosfato (KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ y NaN_3) en el microscopio electrónico. El oro procede del recubrimiento realizado a las muestras para hacerlas visibles al microscopio.

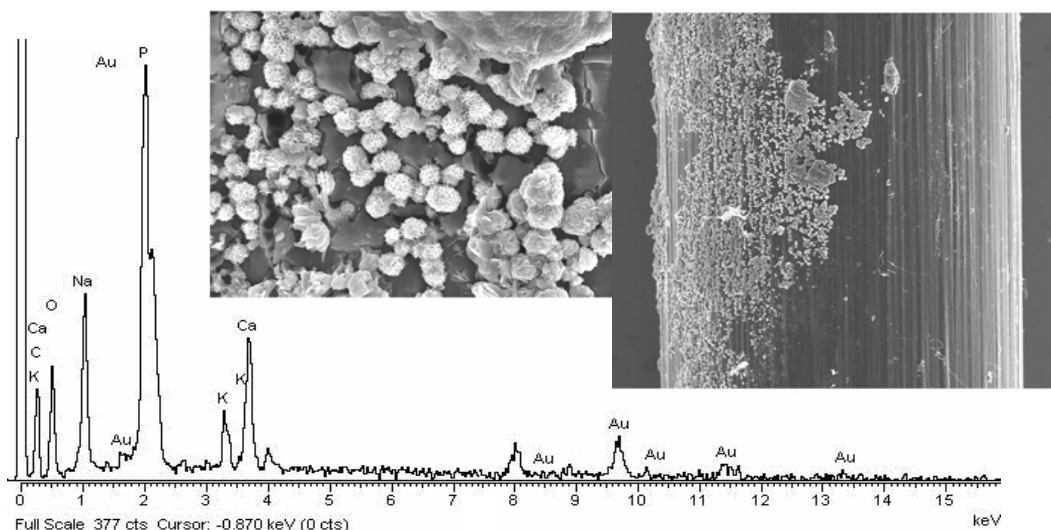


Figura 6.17. Fosfatos en la superficie de PDO a las 3 semanas de degradación hidrolítica en Sørensen.



7 Cinéticas de carga y liberación controlada

Desde un punto de vista teórico, cuando se introduce un sistema matriz polimérica-fármaco en una solución acuosa que simula un medio intercelular, la liberación de la droga tiene lugar por un mecanismo que depende de las características del fármaco y de la matriz. Así, si el fármaco es soluble en agua, el mecanismo de liberación tiende a ser por difusión, en tanto que, un fármaco poco soluble en agua es liberado preferentemente por un mecanismo de erosión de la matriz. Un polímero cuya biodegradación es lenta favorece un proceso de difusión y un polímero que se degrada rápidamente promueve un mecanismo de erosión.

Cuando aplicamos las consideraciones teóricas anteriores al sistema triclosan /polidioxanona llegamos a la conclusión de que el triclosan, por su baja solubilidad en agua, debe favorecer un proceso de liberación por erosión. Sin embargo, los datos que hemos obtenido en trabajos previos, y que muestran una relativamente rápida liberación del fármaco, nos hacen pensar que el mecanismo principal de la liberación del triclosan en suturas de PDO debe ser un fenómeno de difusión, ya que es bien conocida la lenta degradación de la polidioxanona cuyo masa desciende a partir de la 6^a-8^a semana de hidrólisis. Por tanto hay que descartar que el triclosan se libere como consecuencia de la erosión del hilo; incluso pensamos que debemos descartar una combinación de ambos procesos.

En la bibliografía [13] existen diversas ecuaciones que permiten describir la cinética de liberación de un fármaco a partir de una matriz polimérica. A continuación comentamos algunas de las que pueden ser aplicadas a la liberación a partir de un hilo de sutura:

Cinéticas de orden cero: tienen lugar preferentemente en sistemas farmacéuticos que no se disgregan y en los que la liberación del fármaco es bastante lenta. Se debe aplicar a sistemas en los que la forma y el área de la matriz polimérica no cambian y, asimismo, a intervalos de tiempo en los que no se hayan alcanzado aún condiciones de equilibrio.

Desde un punto de vista práctico, una matriz que siga esta cinética libera la misma cantidad de fármaco cada unidad de tiempo, es decir la dosis liberada desde la forma farmacéutica no varía con el tiempo en que el sistema lleva funcionando. Por tanto, es la manera ideal de conseguir una acción farmacológica constante y prolongada. La salida de fármaco al medio sigue la ecuación:

$$(I) \text{ Release de orden cero: } \frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t \quad (\text{Ec. 1})$$



En la expresión anterior, M_t es la cantidad de droga en el medio a tiempo t y M_∞ es la cantidad inicial de fármaco en el hilo. En nuestro trabajo, dado que en cada hilo se ha cuantificado la carga total, tenemos todas las M_∞ .

Esta relación es muy usada para describir el comportamiento de formas farmacéuticas comunes como parches transdérmicos, comprimidos con drogas poco solubles y comprimidos con recubrimiento.

Una forma alternativa de aplicar la ecuación anterior es con la expresión:

$$Q_t = Q_0 + K_0 \cdot t \quad (\text{Ec. 1'})$$

En la que Q es la cantidad de droga disuelta en el tiempo t y Q_0 es la cantidad inicial de droga en el medio, en la mayoría de las ocasiones Q_0 es cero. K_0 es la constante de liberación de orden cero.

Cinéticas de primer orden: Es un modelo que ha sido usado para describir la adsorción y eliminación de ciertos fármacos, sin embargo este mecanismo es difícil de conceptualizar desde el punto de vista teórico.

$$(II) \text{ Release de primer orden: } \ln \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right) = -k \cdot t \quad (\text{Ec. 2})$$

$$\text{Cuya forma alternativa de aplicación es: } \ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 \cdot t \quad (\text{Ec. 2'})$$

Asumiendo que en la liberación de un sólido en un líquido influye la superficie en la que el sólido y el líquido entran en contacto, Noyes-Whitney propuso una ecuación que fue posteriormente modificada por Brunner. En ella C es la concentración de soluto a tiempo t , A es el área superficial del sólido expuesto al medio de disolución; C_s es la concentración de saturación del fármaco en el medio a tiempo t ; y k es la constante de disolución.

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot A(C_s - C) \quad (\text{Ec. 3})$$

Sin embargo, en sistemas “reales”, la aplicación de este modelo puede resultar complicado por la presencia de factores adicionales que modifican las características del medio de disolución sin la escala de tiempo del experimento y por variaciones del sólido a disolver.

Higuchi estudió varios sistemas con características diversas: drogas solubles en agua y sistemas de reducida solubilidad incluidas en matrices tanto semi-sólidas como sólidas.



La ecuación de tiempo de Higuchi al cuadrado se ha derivado de la primera ley de difusión de Fick. Es aplicable a modelos de liberación del fármaco desde una matriz plana homogénea, asumiendo que la matriz no se disuelve, por ejemplo sistemas transdérmicos y comprimidos con fármacos solubles:

$$(III) \quad \left(\frac{M_t}{M_\infty} \right)^2 = k \cdot t \quad (Ec. 4)$$

Su forma alternativa es: $Q_t = K_H \cdot \sqrt{t}$ (Ec. 4')

La ecuación de raíz cúbica, propuesta por **Hixson y Crowell**, tiene su fundamento cuando se asume que el área de un objeto es proporcional a la raíz cúbica de su volumen. Esta ecuación es aplicable preferentemente a formas farmacéuticas en las que el tamaño disminuye progresivamente aunque conserve su forma inicial:

$$(IV) \quad \sqrt[3]{\frac{1 - M_t}{M_\infty}} = -k \cdot t \quad (Ec. 5)$$

Su forma alternativa de aplicación es: $Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_s \cdot t$ (Ec. 5')

La ecuación de **Baker y Lonsdale** parte del modelo de Higuchi aunque lo adapta a matrices de forma esférica con velocidad de difusión limitada. Es por tanto aplicable preferentemente a microcápsulas y microesferas:

$$(V) \quad \frac{3}{2} \left[1 - \left(\frac{M_t}{M_\infty} \right)^{2/3} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t \quad (Ec. 6)$$

Su aplicación práctica es compleja pues la ecuación alternativa toma la forma:

$$(3/2) \left[1 - (-1(Q_t / Q_\infty))^{2/3} \right] - (Q_t - Q_\infty) = K \cdot t \quad (Ec. 6')$$

Comenzaremos por exponer los requisitos que nos permitirán establecer cual es la cinética que mejor se adapta a las curvas de liberación obtenidas por nosotros. El principal criterio será que la gráfica pase por el **origen**, pues es evidente que a tiempo de carga cero horas, no obtendremos liberación de fármaco alguno. El segundo requisito para considerar que se ajusta correctamente será que **R > 0'91**. El límite de liberación a **24h** se considera totalmente válido, pero rompe la tendencia lineal y no se tuvo en cuenta por motivos de saturación del tampón fosfato. Para detallar mejor las cinéticas a través de los diferentes modelos, además de las gráficas, presentamos tablas comparativas numéricas.



En la bibliografía se encuentran trabajos que señalan que para evitar complicaciones relacionadas con el comportamiento “del estado no regular” es conveniente no considerar los datos de los primeros momentos de la liberación. Así por ejemplo, Sandra Kockisch *et al*/ establecieron que, para el cálculo de parámetros, sólo la cantidad de fármaco pasada la hora de carga se debe tener en cuenta. En cuanto a las liberaciones, consideran las cantidades a tiempos superiores a 15 minutos.

En este PFC, se adoptó esta estrategia para evitar las complicaciones típicas mostradas en los primeros minutos de un experimento en disolución. Así, en la incorporación de fármaco se tomó la primera medida a 30 minutos y en los procesos de liberación comenzamos a medir a partir de una hora. Hay que puntualizar que en este trabajo hemos optado por aplicar las cinéticas anteriores tanto al proceso de liberación de triclosan a partir de las suturas como al proceso de carga de éstas a partir de soluciones de diclorometano.

7.1. Cinéticas de Incorporación de fármaco al hilo

El método que hemos utilizado para cargar triclosan en los hilos también se basa en un proceso de difusión, en diclorometano, que puede ser considerado “inverso” al proceso de liberación. En consecuencia, hemos creído conveniente aplicar al procedimiento de carga las ecuaciones cinéticas de liberación con el objetivo de verificar si el proceso se ajusta prioritariamente a alguno de los modelos anteriormente expuestos.

Para el ajuste de cinéticas se escogieron periodos de 0-24h, asumiendo que los términos M_t y M_0 eran las cargas a tiempo t y tiempo 24h, respectivamente. Los coeficientes de correlación y las desviaciones estándar para la regresión lineal se deben usar como parámetros que permiten evaluar la calidad de ajuste a cada uno de los modelos. También se han considerado los valores de K que deben ser los más próximos posible.

En la tabla 7.1 se muestran los resultados de aplicar las fórmulas del apartado anterior a los datos experimentales obtenidos en la incorporación de TCS a las suturas de PDO. Una vez aislados cada término x e y , obtuvimos el valor de K_M (constante cinética de cada modelo) y el coeficiente de correlación mediante regresión lineal.



MODELO	Carga de triclosán en baño, % (w/v)					
	2%		5%		10%	
	<i>r</i>	Ecuación	<i>r</i>	ecuación	<i>r</i>	Ecuación
Orden cero	0,877	$y = 0,037x + 0,389$	0,902	$y = 0,041x + 0,347$	0,969	$y = 0,042x + 0,322$
Primer orden	0,891	$y = 0,233x$	0,988	$y = 0,265x$	0,984	$y = 0,185x$
Hixson y Crowell	0,844	$y = 0,020x + 0,633$	0,854	$y = 0,022x + 0,642$	0,933	$y = 0,021x + 0,663$
Higuchi	0,937	$y = 0,091x$	0,997	$y = 0,092x$	0,979	$y = 0,060x$
Baker y Lonsdale	0,871	$y = 0,081x - 0,313$	0,894	$y = 0,091x - 0,414$	0,961	$y = 0,093x - 0,465$
Datos experimentales	0,981	$y = 1,597\ln(x) + 3,321$	0,992	$y = 3,457\ln(x) + 6,008$	0,984	$y = 8,550\ln(x) + 14,75$

Tabla 7.1. Coeficientes de correlación (*r*) y ecuación de velocidad de carga (*k*) resultante del ajuste a los diferentes modelos matemáticos del perfil de incorporación de TCS.

Observamos en la tabla 7.1 que los datos obtenidos mediante HPCL se ajustan a los modelos con coeficientes de correlación superiores a 0'8. Los mejores valores de *r* se obtienen con los baños del 10% y los peores para el 2%. Los ajustes son buenos, pero el primer criterio nos hace desechar aquellos que no pasan por el origen (los que tienen ecuación con término independiente).

En tabla 7.2 exponemos los resultados encontrados cuando el proceso de carga se divide en dos fases: inicial y terminal, siendo los tiempos considerados de 0 – 4 h y de 4 – 24 h respectivamente. Este análisis lo aplicamos a los modelos que se ajustan a $R > 0'91$, como se comentó anteriormente.

% (w/v)	MODELO	Fase inicial		Fase final	
		<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>
2%	Higuchi	0,973	0,1208	0,993	0,022
5%	Primer orden	0,903	0,2642	0,948	0,1077
	Higuchi	0,996	0,0935	0,925	0,0262
10%	Primer orden	0,947	0,1392	0,845	0,0956
	Higuchi	0,950	0,0817	0,943	0,0324

Tabla 7.2. Modelos válidos para las incorporaciones totales de TCS.



Vemos que los mejores ajustes (correlaciones) son a los modelos de Higuchi para las tres cargas. La calidad de ajuste fue mayoritariamente mejor ($R \geq 0.95$) en las fases iniciales.

Los resultados obtenidos anteriormente pueden ser comparado con los obtenidos por Zurita *et al.* en su estudio de la incorporación de ibuprofeno a hilos de sutura de PDO. La tabla 7.3 recoge los resultados de los ajustes de sus valores experimentales a ecuaciones de orden cero, orden uno e Higuchi.

Ibuprofen in loading bath % (w/v)	Model					
	Zero-order		First-order		Higuchi	
	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>
2	0.602	0.31	0.984	0.28	0.876	0.24
5	0.711	0.13	0.977	0.31	0.943	0.58
10	0.624	0.37	0.985	0.32	0.929	0.49

Tabla 7.3. Coeficientes de correlación y constante de velocidad de carga para el ajuste a modelos matemáticos de los perfiles de carga de ibuprofeno.

Zurita *et al.* ajustaron los diferentes modelos cinéticos tomando como criterios comparativos los valores de los coeficientes de correlación (*r*) y de la constante *k*. Como muestra la tabla 7.3, los mejores ajustes correspondieron a las ecuaciones de primer orden e Higuchi, siendo la ecuación de orden uno la que tiene el mejor coeficiente de correlación con una constante de velocidad de carga de aproximadamente 0.30 h^{-1} .

7.2. Cinéticas de Liberación de fármaco desde el hilo

Para las cinéticas de liberación no utilizaremos el modelo de **Baker y Lonsdale** por haber comprobado que no se ajusta a nuestro experimento ($R < 0.91$). Teniendo en cuenta la descripción del modelo hecha anteriormente, es lógico que no se adapte a los hilos de sutura puesto que ha sido diseñada para una matriz de forma esférica.

En la tabla 7.4 vemos las correlaciones a los modelos cinéticos para hilos de baños al 2%. Se debe de ajustar todo el experimento a un solo modelo, pues entre Sörensén al 100 o al 75% debemos entender que son medios similares. En Sörensén, el ajuste a Higuchi es ligeramente superior al de primer orden. Por el contrario, se ajusta mejor a orden uno en 75% en tampón fosfato. Considerando los valores de la regresión, escogemos como modelo general el de primer orden, elección que se ve confirmada cuando se ajustan otras concentraciones.



MODELO	2% de triclosán (w/v) en baño. Liberación en SORESEN							
	SR2%01L		SR2%02L		SR2%08L		SR2%24L	
	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>
Orden cero	0,929	0,0005	0,906	0,0004	0,850	0,0001	0,839	0,0004
Primer orden	0,953	0,001	0,935	0,0009	0,854	0,0002	0,840	0,0005
Hixson y Crowell	0,907	0,0002	0,879	0,0003	0,846	0,0001	0,837	0,0003
Higuchi	0,953	0,0005	0,939	0,0004	0,857	0,0001	0,840	0,0003
MODELO	2% de triclosán (w/v) en baño. Liberación en SORESEN-ETANOL [75:25]							
Orden cero	0,844	0,001	0,763	0,0011	0,872	0,0012	0,955	0,0016
Primer orden	0,979	0,0052	0,956	0,006	0,965	0,0047	0,991	0,0098
Hixson y Crowell	0,805	0,0004	0,722	0,0005	0,914	0,001	0,920	0,001
Higuchi	0,896	0,0015	0,823	0,0015	0,918	0,0017	0,981	0,0022

Tabla 7.4. Coeficientes de correlación (*r*) y constante de velocidad de carga (*k*) para el ajuste a los diferentes modelos matemáticos del perfil de liberación de TCS.

En la tabla 7.5. exponemos los datos de las correlaciones para el 5% de triclosan, viendo que se impone claramente la cinética de primer orden. En Sörensén, el ajuste a Higuchi y el ajuste a orden uno muestran correlaciones parecidas, sin embargo las diferencias entre ambas correlaciones son ya significativas en el de tampón fosfato 75 %.

MODELO	5% de triclosán (w/v) en baño. Liberación en SÖRESEN							
	SR5%01L		SR5%04L		SR5%08L		SR5%24L	
	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>K</i>
Orden cero	0,867	0,0011	0,884	0,0005	0,821	0,0006	0,867	0,0011
Primer orden	0,960	0,0059	0,911	0,0009	0,862	0,012	0,960	0,0059
Hixson y Crowell	0,848	0,0004	0,859	0,0003	0,788	0,0004	0,848	0,0004
Higuchi	0,893	0,0016	0,917	0,0005	0,869	0,0006	0,893	0,0016
MODELO	5% de triclosán (w/v). Liberación en SORESEN-ETANOL [75:25]							
Orden cero	0,820	0,0008	0,693	0,0009	0,773	0,0011	0,750	0,0017
Primer orden	0,952	0,0062	0,842	0,008	0,897	0,0097	0,919	0,0091
Hixson y Crowell	0,800	0,0004	0,755	0,0005	0,822	0,0007	0,717	0,0008
Higuchi	0,848	0,0013	0,715	0,0014	0,806	0,0018	0,791	0,0022

Tabla 7.5. Coeficientes de correlación (*r*) y constante de velocidad de carga (*k*) para el ajuste a los diferentes modelos matemáticos del perfil de liberación de TCS.



En la tabla 7.6, con los datos de los baños al 10%, volvemos a tener mejores ajustes al modelo de primer orden que al de Higuchi. En consecuencia, podemos concluir definitivamente que las liberaciones de triclosan en tampón fosfato ó tampón fosfato-etanol 75:25 desde suturas de poli(p-dioxanona) cargadas en baños de entre el 2-10%, siguen los modelos cinéticos de primer orden.

MODELO	10% de triclosán (w/v). Liberación en Sorensen-ETANOL [75:25]							
	SR10%01L		SR10%04L		SR10%08L		SR10%24L	
	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>	<i>r</i>	<i>k</i>
Orden cero	0,849	0,0023	0,857	0,0039	0,825	0,0029	0,830	0,0026
Primer orden	0,892	0,0057	0,993	0,024	0,863	0,0061	0,895	0,0052
Hixson y Crowell	0,824	0,0009	0,813	0,0017	0,790	0,0017	0,765	0,0018
Higuchi	0,879	0,0026	0,902	0,005	0,860	0,0028	0,899	0,0024

Tabla 7.6. Coeficientes de correlación (*r*) y constante de velocidad de carga (*k*) para el ajuste a los diferentes modelos matemáticos del perfil de liberación de TCS.



8 Análisis de la degradación hidrolítica *in vitro*

La degradación de los materiales poliméricos empleados como hilos de sutura se ve afectada por muchos parámetros. Entre ellos podemos citar la naturaleza química del polímero constituyente, su esterilización previa, composición, peso molecular, cristalinidad, porosidad y tamaño de la matriz. Influyen también la temperatura, presencia de plastificantes, solventes residuales y enzimas. Tienen su importancia asimismo la concentración de tampón o el medio de degradación e incluso la tensión del cosido por el cirujano. También se ve afectada por la presencia de aditivos con carácter ácido, básico o salino.

El triclosan y el ibuprofeno, fármacos cuya liberación desde suturas se estudia en este proyecto y en trabajos anteriores, tienen carácter ácido (figura 8.1). Por ello, hemos considerado interesante dilucidar si actúan como catalizadores en la degradación de poliésteres, y en consecuencia, si modifican el perfil de degradación de los hilos. El ibuprofeno [2-(p-isobutilfenil)ácido propiónico], es un bien conocido antiinflamatorio, indicado para la disminución del dolor moderado y la inflamación (por ejemplo, en un post-operatorio). Existen dos estereoisómeros en la formulación comercial, S(+) Y R(-). Sólo el primero es activo, pero el organismo es capaz de invertir la forma R en S.

No hemos encontrado antecedentes de trabajos en los que se estudie si los compuestos existentes en las suturas, por ejemplo el violeta cristal, añadido al 0,2%, como colorante en la polidioxanona comercial, pueden afectar a la biodegradación de estos hilos.

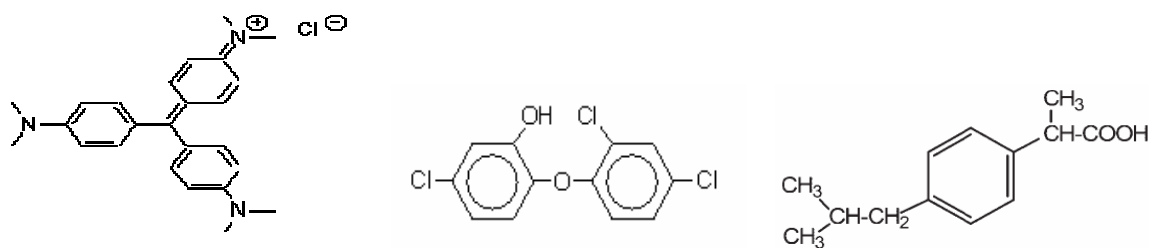


Figura 8.1. Estructura química del Violeta cristal, del Triclosan y del Ibuprofeno.

La diferencia de estructura química entre ambos fármacos puede posiblemente traducirse en acciones catalíticas diferentes. Ambos son compuestos aromáticos con reducida solubilidad en agua y como se ha mencionado anteriormente con carácter ácido. El Triclosan contiene un grupo fenol de menor acidez que el grupo carboxilo que muestra el Ibuprofeno. Por tanto, debe esperarse una mayor acción catalítica del Ibuprofeno.

Aunque algunos artículos indiquen que es necesario un porcentaje significativo de aditivos para modificar de forma notable el comportamiento del polímero, hemos decidido mantener



los porcentajes de fármaco que se han utilizado en los estudios de liberación. De esta manera, queremos verificar si concentraciones de drogas adecuadas para una acción farmacológica eficaz modifican, aunque sea en grado mínimo, el comportamiento de la sutura. No obstante, y a fin de detectar los posibles cambios en el menor tiempo posible, hemos empleado hilos con la máxima carga de fármaco de entre las utilizadas en los estudios de liberación.

El comportamiento durante la degradación *in vitro* de las suturas de PDO calibre 1 se estudió siguiendo la variación de los siguientes parámetros: pérdida de masa de polímero y peso molecular. Se utilizará calorimetría DSC para detectar los cambios en el comportamiento térmico. Asimismo se siguió la variación de pH en los medios en los que ésta tuvo lugar.

Es bien conocido que la PDO es una sutura de las denominadas de “degradación lenta”. Por tanto, decidimos hacer un ensayo a temperatura fisiológica y otro acelerado, 50° C, con objeto de obtener resultados significativos en el relativamente corto tiempo de realización de un Proyecto Fin de Carrera.

Utilizamos dos hilos de 5 cm sumergidos en 30 mL de medio de degradación que dispusimos en frascos de 100 ml. Fue necesario utilizar mayor cantidad de hilo que en los estudios de liberación para que hubiese muestra suficiente para los análisis de GPC y DSC. Además, decidimos utilizar dos medios de degradación diferentes: tampón fosfato para los estudios a 37 °C y agua destilada para la degradación a 50 °C.

La degradación hidrolítica real se basó en un estudio a **37°C** con 7 variantes de ensayo en tampón fosfato, y tomando 6 datos de muestreo (cinco tiempos de degradación), con el inicial. Un segundo análisis introdujo tres variantes: sin agitación, incrementando la temperatura a 50°C y sólo en agua destilada (pues en [5], Sabino *et al* revelaron una mayor biodegradación).

Pasados los días de incubación previstos para una muestra, ésta debe ser extraída asegurándose de que esté perfectamente limpia para su posterior estudio. Se lavaron tres veces en agua destilada. Finalmente, se secaron al aire en papel absorbente dentro de un vial durante un día, para después pasarlo al desecador de vacío cinco días más.

Para determinar el **peso** de cada muestra después de la degradación, antes debe asegurarse que esté completamente seca. Cuando el peso de la muestra se mantuvo constante, dimos el resultado por válido.



37°C	Ensayos Pérdida de Peso: Tampón Fosfato Ensayos pH: Agua Destilada
Virgen	Sutura monofilar sin tratar
NOcolor	Sutura monofilar hinchada en CH ₂ Cl ₂ para la extracción de violeta cristal
10%TCS24L	TRICLOSAN al 10% w/v. Carga 24 hora
10%TCS04L	TRICLOSAN al 10% w/v. Carga 4 horas
10%TCS01L	TRICLOSAN al 10% w/v. Carga 1 horas
10%IBF24L	IBUPROFEN al 10% w/v. Carga 24 horas
10%IBF04L	IBUPROFEN al 10% w/v. Carga 4 horas
50°C	Todo en Agua Destilada
NOcolor	Sutura monofilar decolorada
10%TCS24L	TRICLOSÁN al 10% w/v. Carga 24 horas
10%IBF24L	IBUPROFEN al 10% w/v. Carga 24 horas

Tabla 8.1. Relación de muestras sometidas a degradaciones in vitro.

El estudio de la morfología superficial de la PDO según el tiempo de degradación no se realizó, por estar ampliamente documentado en la bibliografía [4, 7, 27, 28]. El exhaustivo estudio de Sabino *et al* [5] complementa además el análisis de la morfología superestructural, seguida en el microscopio óptico polarizado.

8.1. Determinación de pérdida de peso

Los fragmentos de sutura, una vez cortados, cargados, secos, lavados y puestos al vacío, se pesaron para un estudio completo de pérdida de peso. Las muestras se recogieron cada dos semanas para el ensayo a 37°C y cada 10 días para el estudio a 50°C. La pérdida de peso se calculó con la ecuación:

$$Pérdida\ peso(\%) = \frac{peso\ después\ degradación}{peso\ inicial} \times 100$$

La poli(p-dioxanona) tiene una velocidad de degradación lenta. En comparación con los ácidos poliglicólico y poliláctico, la PDO muestra menor tendencia a la degradación vía hidrólisis debido a la menor concentración de grupos éster. Algunos autores [10,28] realizan pruebas en condiciones aceleradas de mayor temperatura y en pH ácidos o básicos. En nuestro caso, los fármacos y la temperatura a 50°C son los factores que pueden acelerar el proceso.

A continuación se muestran los resultados en las tablas 8.2 y 8.3 para los ensayos a 37 y 50°C respectivamente:



Experimento a 37°C		1	2	3	4	5
Tiempo transcurrido (días)		14	28	45	58	73
Virgen	$m_{inicial}$	0,0302	0,0298	0,0296	0,0296	0,0303
	m_{final}	0,0298	0,0297	0,0298	0,0295	0,0296
	%remanente	98,6755	99,6644	100,6757	99,6622	97,6898
NOcolor	$m_{inicial}$	0,0309	0,0303	0,0305	0,0302	0,0301
	m_{final}	0,0305	0,0295	0,0301	0,0298	0,0297
	%remanente	98,7055	97,3597	98,6885	98,6755	98,6711
10%TCS24L	$m_{inicial}$	0,0305	0,0297	0,0319	0,0308	0,0309
	m_{final}	0,0299	0,0293	0,0314	0,0302	0,0303
	%remanente	98,0328	98,6532	98,4326	98,0519	98,0583
10%TCS04L	$m_{inicial}$	0,0293	0,0296	0,0335	0,0311	0,0288
	m_{final}	0,0286	0,0294	0,0331	0,0304	0,0283
	%remanente	97,6109	99,3243	98,8060	97,7492	98,2639
10%TCS01L	$m_{inicial}$	0,0315	0,0312	0,0313	0,0320	0,0310
	m_{final}	0,0309	0,0308	0,0313	0,0312	0,0303
	%remanente	98,0952	98,7179	100,0000	97,5000	97,7419
10%IBF24L	$m_{inicial}$	0,0272	0,0317	0,0318	0,0321	0,0321
	m_{final}	0,0265	0,0312	0,0310	0,0308	0,0305
	%remanente	97,4265	98,4227	97,4843	95,9502	95,0156
10%IBF04L	$m_{inicial}$	0,0327	0,0316	0,0317	0,0326	0,0316
	m_{final}	0,0321	0,0312	0,0313	0,0318	0,0309
	%remanente	98,1651	98,7342	98,7382	97,5460	97,7848

Tabla 8.2. Peso remanente de las suturas de PDO sometidas a hidrólisis. 37°C.

En general, las suturas absorbibles monofilamento sintéticas, compuestas de poliésteres alifáticos, siguen un comportamiento de erosión heterogénea en bloque que normalmente adopta un mecanismo de degradación en dos pasos. A 37°C, la bibliografía [7] nos habla de un periodo inicial (hasta 6-8 semanas), donde la degradación sucede de forma más rápida en la superficie del polímero a causa de la gran habilidad del agua para penetrar en las zonas amorfas. En esta etapa, la escisión aleatoria de los enlaces éster por hidrólisis causa la reducción del peso molecular. Sin embargo, los productos de la degradación encuentran dificultades en la difusión hacia el medio tamponado, obteniendo mínimos cambios en la masa. Posteriormente, la incapacidad de los productos de degradarse y desprenderse fuera



de la fibra en bloque, pues son de larga cadena, conduce a una mayor acidez local en el interior de los materiales de sutura (el llamado efecto jaula). A esto debemos unir la acidez que ya incluye el polímero con la carga de fármacos (triclosan e ibuprofeno). Este entorno más ácido desencadena el efecto catalítico para una mayor degradación, lo que acelera la pérdida de peso.

Experimento a 50°C		1	2	3	4	5
Tiempo transcurrido (días)		11	22	32	42	53
NOcolor	$m_{inicial}$	0,0301	0,0319	0,0321	0,0618	0,0944
	m_{final}	0,0291	0,0295	0,0211	0,0216	0,0189
	%remanente	96,6777	92,4765	65,7321	34,9515	20,0212
10%TCS24L	$m_{inicial}$	0,0299	0,0320	0,0318	0,0640	0,0958
	m_{final}	0,0295	0,0315	0,0260	0,0326	0,0306
	%remanente	98,6622	98,4375	81,7610	50,9375	31,9415
10%IBF24L	$m_{inicial}$	0,0304	0,0311	0,0315	0,0631	0,0933
	m_{final}	0,0262	0,0235	0,0139	0,0124	0,0055
	%remanente	86,1842	75,5627	44,1270	19,6513	5,8950

Tabla 8.3. Peso remanente de las suturas de PDO sometidas a hidrólisis. 50°C.

En los ensayos a 37°C (figura 8.2) se apreciaron cambios mínimos en la masa hasta las 50 días *in vitro*. Todas las suturas experimentaron pérdidas de un 2-3% al final del estudio, a excepción de la cargada con ibuprofeno durante 24h, cuyo peso descendió un 5% de peso. Comparados con los datos de la bibliografía [4,16,28], hemos obtenido pérdidas de peso muy similares a pesar de que en nuestro estudio la sutura contiene fármacos.

En la degradación a 50°C, la hidrólisis se acelera considerablemente, tanto por efecto de la temperatura como por usar agua como medio, en lugar de tampón fosfato. Observamos dos pendientes en las curvas. La primera etapa de cambio en la masa acaba a los 20 días (aunque para el ibuprofeno la caída es de más del 20%). Ya en la segunda etapa, la masa disminuye considerablemente, debido al efecto catalítico de los grupos ácidos de los extremos de cadena originados. Claramente se aprecia el mayor efecto catalítico del ibuprofeno, que a 53 días sólo conserva un 5% del peso inicial. El hilo con triclosan conserva un 30% de peso, y el decolorado, el 20%. Es notable el comportamiento del hilo cargado con triclosan, un fármaco levemente ácido, que muestra una velocidad de hidrólisis inferior al hilo decolorado. Este efecto retardador de la hidrólisis podría deberse a su doble anillo aromático, que lo hace más hidrófobo, dificultando así la entrada del medio acuoso en el hilo.



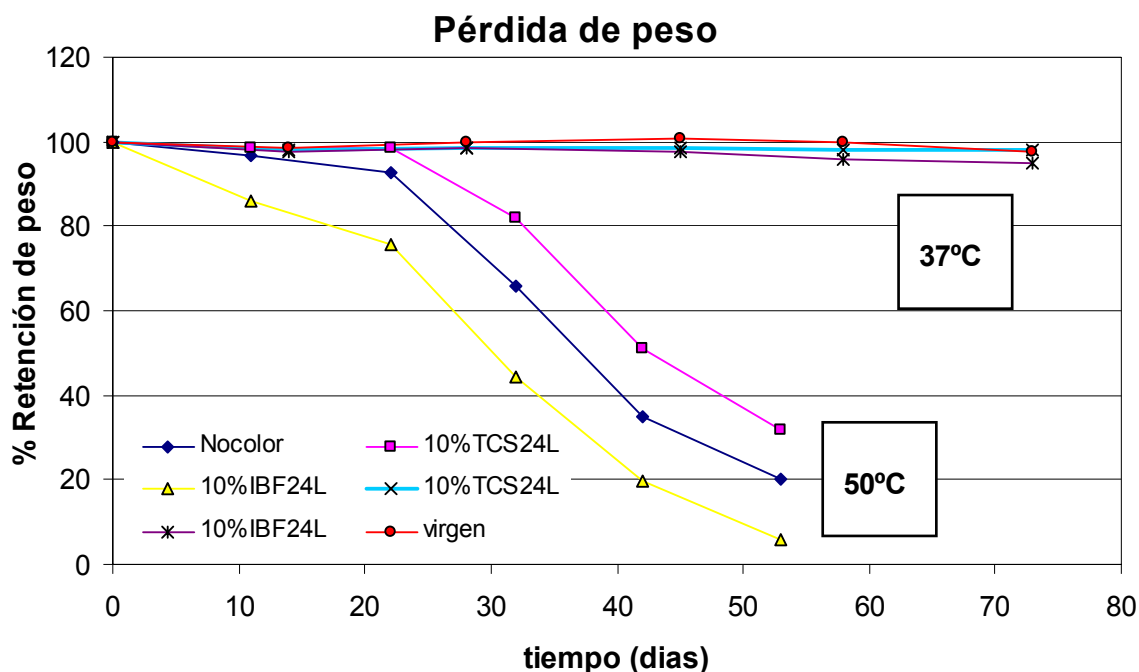


Figura 8.2. Pérdidas de peso para distintas variables aplicadas a suturas de PDO durante su degradación.

8.2. Descenso de pH

En algunos trabajos sobre degradación de hilos de PDO comerciales, ya citados, se sigue el proceso midiendo el descenso del pH del medio de degradación. En nuestro caso, el estudio se efectuó a 37°C durante 12 semanas y a 50°C durante 9 semanas, y utilizando agua destilada como medio. Las medidas de pH se realizaron con un pH metro (GLP21 Crison) y directamente en el frasco que contenía un fragmento de 5 cm de hilo sumergido en 30 mL de agua. Los datos obtenidos se representan en las tablas 8.4 y 8.5, y en la figura 8.3.

Degradaciones en Agua Destilada. pH = 7						
37°C	1	2	3	4	5	6
Tiempo (días)	14	28	45	58	73	86
Virgen	6,84	6,80	6,76	6,56	5,84	5,23
NOcolor	6,99	7,03	6,88	6,10	5,10	4,45
10%TCS24L	6,96	6,98	7,02	6,91	6,53	5,58
10%TCS04L	7,00	7,10	7,17	7,00	6,48	5,45
10%TCS01L	6,90	6,83	6,69	6,54	6,10	5,37
10%IBF24L	6,80	6,49	5,56	4,90	4,19	3,77
10%IBF04L	6,83	6,74	6,56	6,09	5,24	4,66

Tabla 8.4. Datos experimentales de disminución de pH en PDO a 37°C.



50°C	1	2	3	4	5	6
Tiempo (días)	11	22	32	42	53	63
NOcolor	5,68	3,94	3,32	3,10	2,95	2,89
10%TCS24L	5,82	4,00	3,30	3,07	2,93	2,85
10%IBF24L	5,12	3,21	3,05	2,91	2,85	2,81

Tabla 8.5. Datos experimentales de disminución de pH en PDO a 50°C.

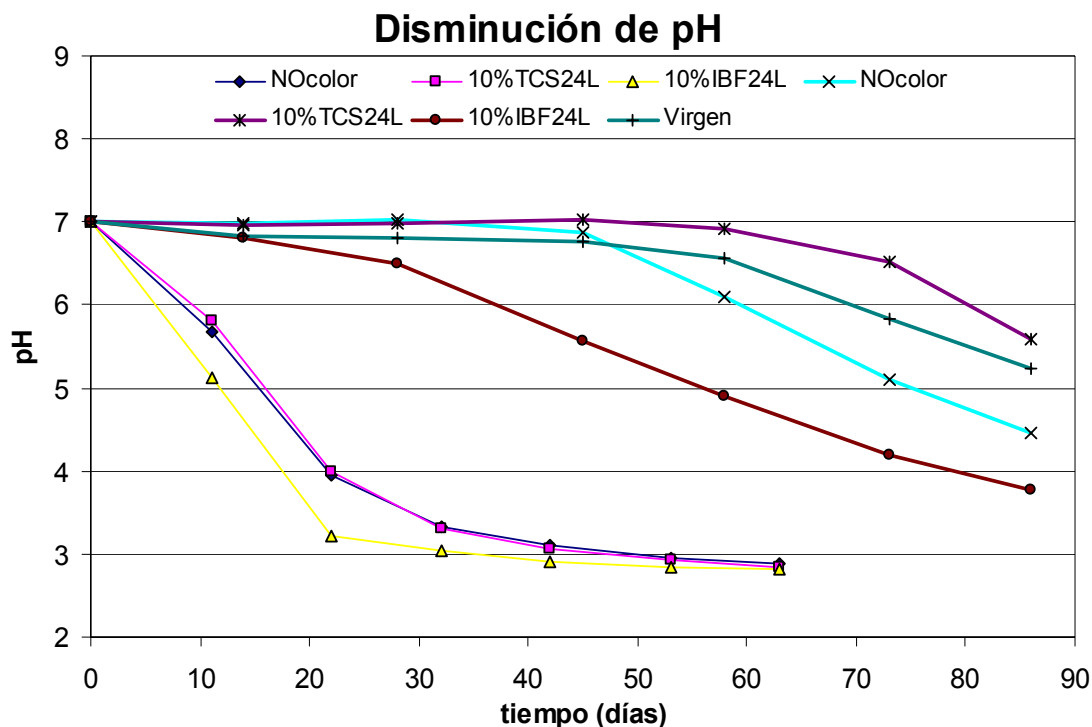


Figura 8.3. Datos experimentales de descenso de pH en PDO a 37°C (4 curvas superiores) y a 50°C (3 curvas inferiores).

La disminución de pH en el medio que tiene lugar en la hidrólisis de poliésteres se debe a el incremento de grupos carboxílicos en extremos de cadena que se origina como consecuencia de la ruptura de enlaces éster. Sin embargo, en este trabajo en concreto, el pH puede también verse afectado por alguno de los aditivos que se encuentran en el hilo. La aportación del triclosan al cambio de pH debe ser mínima, pues se trata de un compuesto fenólico. Algo similar debe ocurrir con el violeta cristal, que se adiciona en forma de clorhidrato. El aditivo que influye realmente, es el ibuprofeno debido a su carácter de ácido carboxílico.

En los ensayos a 37°C la disminución de pH se hizo notable a los 28 días en el hilo con ibuprofeno, y a partir de 45-60 días para el resto. En orden decreciente, el triclosan, virgen, decolorado e ibuprofeno, descendieron su pH hasta 5'58, 5'23, 4'45 y 3'77 respectivamente. A 50°C los descensos de pH ya se notaron a 10 días. Son importantes las diferencias de valores a 37 y 50°C, pues indican que los descensos de pH no son debidos sólo al



ibuprofeno, sino principalmente a los grupos carboxilos originados a partir de los enlaces éster.

El efecto catalítico del ibuprofeno se manifiesta en un descenso mayor del pH del frasco en el que se degrada a 37°C (figura 8.3). El hilo decolorado se encuentra por debajo del pH del hilo virgen, puesto que en el proceso de extracción del violeta cristal, se ha hinchado su estructura y posiblemente no haya recuperado su estado inicial. El hilo con triclosan es el que origina un menor descenso de pH debido a su hidrofobicidad ya comentada.

En la experiencia a 50°C, los tres tipos de hilos ensayados alcanzan el mismo pH final. Sin embargo, en la etapa de descenso de pH de los primeros 20 días puede apreciarse el descenso más rápido del hilo con ibuprofeno.

8.3. Disminución de pesos moleculares (GPC)

Con el objetivo de seguir la degradación de los hilos, se efectuaron medidas de los pesos moleculares poliméricos mediante cromatografía GPC. Las periodicidades para 37 y 50°C son distintas: a 37°C las medidas se tomaron cada dos semanas, y a 50°C, cada 10 días. Los valores recogidos se presentan en las tablas 8.6 a 8.8.

El dato más relevante que aportan las medidas de pesos moleculares es la distinta masa encontrada en los hilos tras decoloración y carga, en relación con el hilo virgen de partida. Si en la tabla 8.6 se comparan los Mw de los hilos virgen, decolorado, con triclosan e ibuprofeno, encontramos que hay una disminución de peso molecular ligada al proceso de decoloración y carga. A partir de un hilo virgen de peso molecular $345.900 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ obtenemos un hilo decolorado de masa 295.900 e hilos cargados con triclosan de masa inicial alrededor de 330.000. Pero las mayores diferencias se encuentran en el hilo cargado con ibuprofeno, cuyas dos muestras iniciales muestran pesos de 230.150 y 275.400.

Estos datos son indicativos de que en el proceso de decoloración y carga, o bien en el secado posterior, hay una degradación del polímero en estado sólido. Sorprende el descenso de peso molecular en el hilo únicamente decolorado, puesto que la operación consiste en sumergirlo en diclorometano 24 horas, y secarlo. En el trabajo de Sabino *et al* [5] se estudian muestras de PDO con violeta cristal y decolorado, no encontrándose diferencias en sus propiedades cristalinas. Sin embargo, estos autores no aportan datos de pesos moleculares antes y después de la decoloración.



Experimento a 37°C		0	1	2	3	4	5
Tiempo transcurrido (días)		0	14	28	45	58	73
Virgen	Mn	144.100	114.300	79.500	56.350	49.850	31.100
	Mw	345.900	275.200	223.450	139.500	118.000	65.350
	PD	2,4	2,4	2,8	2,5	2,4	2,1
NOcolor	Mn	113.800	87.900	67.350	42.400	39.550	23.650
	Mw	295.900	247.200	161.900	104.950	93.750	48.500
	PD	2,6	2,8	2,4	2,6	2,4	2,1
10%TCS24L	Mn	140.500	124.200	118.332	107.826	57.336	34.004
	Mw	323.200	310.500	277.843	236.684	142.309	80.119
	PD	2,5	2,5	2,3	2,2	2,6	2,4
10%TCS04L	Mn	138.000	116.350	112.050	79.750	62.550	32.950
	Mw	341.500	302.700	282.750	191.750	152.550	82.150
	PD	2,5	2,6	2,5	2,4	2,4	1,5
10%TCS01L	Mn	335.850	296.500	240.500	211.850	120.300	92.000
	Mw	335.850	296.500	240.500	211.850	120.300	92.000
	PD	2,5	2,4	2,5	2,4	2,8	2,5
10%IBF24L	Mn	92.050	65.565	44.505	26.740	21.330	17.891
	Mw	230.150	161.342	99.893	63.321	45.500	36.327
	PD	2,5	2,5	2,2	2,4	2,1	2,0
10%IBF04L	Mn	110.150	95.119	85.774	57.474	30.031	22.986
	Mw	275.400	246.555	200.334	127.681	64.247	52.171
	PD	2,5	2,6	2,3	2,2	2,2	2,3

Tabla 8.6. Datos experimentales de pesos moleculares promedio en PDO degradada a 37°C.

Dado que se utilizaron varios sobres para el estudio completo de degradación, pensamos que podía tratarse de diferencias en los lotes de envasado, o bien de sobres guardados en condiciones diferentes. Para corroborar si estos cambios de peso molecular son debidos al propio proceso de decoloración y carga, repetimos este procedimiento utilizando un único sobre de PDO. Los datos de GPC indican claramente que los pesos moleculares se modifican en el proceso (tabla 8.7).

Experimentos	Mn	Mw	PD
Virgen	114.850	328.650	2,9
NOcolor	110.100	317.350	2,9
10%TCS24L	108.950	305.100	2,8
10%TCS04L	103.500	310.400	3,0
10%TCS01L	100.650	312.100	3,1
10%IBF24L	77.450	269.700	3,5
10%IBF04L	87.800	307.350	3,5

Tabla 8.7. Datos experimentales de pesos moleculares promedio en PDO comercial sin degradar.



Otra experiencia que confirma la degradación en estado sólido consistió en volver a pinchar en el GPC algunas muestras iniciales guardadas dos meses en el desecador. Los nuevos pesos moleculares M_w de las muestras 10%TCS01L y 10%IBF04L fueron de 277.844 y 146.765 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, respectivamente, que contrasta con 335.850 y 275.400, que son los valores originales.

En la degradación a **37°C**, encontramos descensos de pesos moleculares que confirman la tendencia a la degradación de los cuatro tipos de muestras estudiados. En la figura 8.4 se comprueba que el hilo con ibuprofeno es el que pierde peso molecular con mayor rapidez y que el hilo menos degradado es el que contiene triclosan.

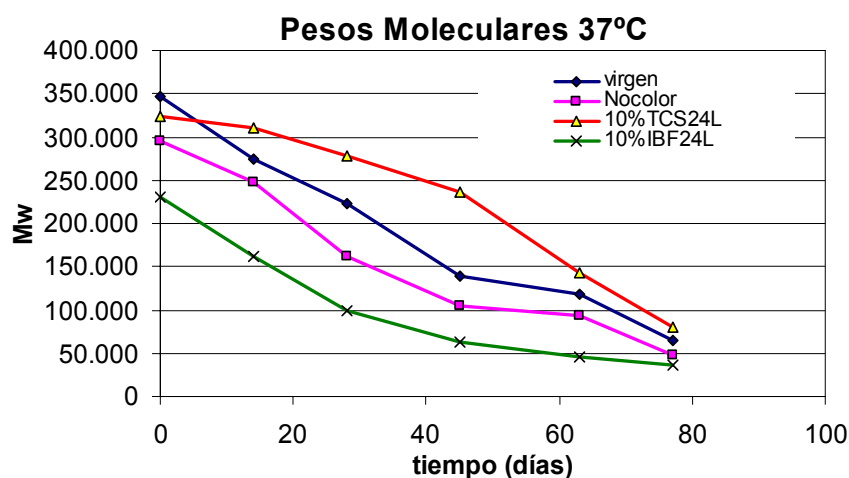


Figura 8.4. Representación gráfica de la disminución de peso molecular promedio en PDO a 37°C.

50°C	NOcolor			10%TCS24L			10%IBF24L		
(días)	Mn	Mw	PD	Mn	Mw	PD	Mn	Mw	PD
t = 0	113.800	295.900	2,6	140.650	343.200	2,3	92.050	230.150	2,5
t = 22	14.900	30.800	2,1	23.900	55.500	2,3	8.100	13.300	1,7
t = 32	6.150	10.250	1,7	9.280	17.100	1,8	5.400	8.100	1,5
t = 42	5.350	8.150	1,5	5.550	8.850	1,6	4.650	7.200	1,5

Tabla 8.8. Datos experimentales de pesos moleculares promedio en PDO degradada a 50°C.

En la degradación a 50°C el proceso es mucho más rápido, y realmente ocurre en los 30 primeros días de hidrólisis. Los pesos moleculares descienden significativamente en ese intervalo y teniendo en cuenta que la pérdida de masa de los hilos ocurre a partir de los 30 días, debemos admitir los fragmentos de cadena con M_w entre 10.000 y 15.000 son los que tienen capacidad para escapar del sólido.



8.4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Gran parte de las propiedades térmicas de los polímeros pueden estudiarse mediante la calorimetría diferencial de barrido (DSC). Las pesadas de la masa requerida por el DSC se realizaron en una balanza electrónica *Mettler AC100* con precisión de 0,1 mg o bien en una balanza *Mettler P1210* con precisión de 10 mg, en función de la cantidad de muestra y de la precisión deseada.

8.4.1. Análisis de termogramas

La caracterización térmica del polímero estudiado se ha llevado a cabo siguiendo un protocolo, consistente en sucesivos calentamientos y enfriamientos de Monoplus® comercial –virgen- (Figura 8.6) que permite determinar los parámetros calorimétricos principales. En el **primer calentamiento (1^{er} barrido)**, realizado a 20 °C/min, se obtiene información acerca de la fusión de la muestra y por tanto sobre el grado de cristalinidad inicial. Los picos de fusión son endotérmicos y relativamente anchos. Este factor indica una variabilidad en las temperaturas de fusión debido la dispersidad de pesos moleculares de la muestra polimérica. En muchas ocasiones se observan también dobles picos de fusión que pueden indicar la existencia de poblaciones de lamelas con distinto grosor y un proceso de recristalización.

Inmediatamente después de la fusión se procede al **enfriamiento lento** (10 °C/min) de la muestra (**2^o barrido**) para observar la cristalización desde el estado fundido. En este caso, se puede observar un pico exotérmico correspondiente a la cristalización en caliente del material. Su posición (temperatura) y área (entalpía) indican, respectivamente, el subenfriamiento necesario y el grado de cristalinidad alcanzado para esta velocidad de enfriamiento.

A continuación se realiza un **segundo calentamiento** (20 °C/min) de la muestra (**3^{er} barrido**) para verificar la fusión de la muestra cristalizada a partir del fundido y la reproducibilidad de las fusiones observadas.

Seguidamente, se somete la muestra a un enfriamiento rápido hasta -50 °C con el fin de obtener el polímero en un estado amorfo. Finalmente, se efectúa un **tercer calentamiento (4^o barrido)** a 20 °C/min que permite determinar la temperatura de transición vítrea del material (discontinuidad en la línea base), observar si se produce una cristalización en frío (*pico exotérmico*) y registrar nuevamente la fusión (*pico endotérmico*).

A partir de los datos obtenidos en la calorimetría puede estimarse la cristalinidad de las muestras cristalizadas en solución y cristalizadas del fundido (χ). Este parámetro se



determina usando como referencia el calor de fusión del material totalmente cristalino, que es estimado a partir de las contribuciones de grupo [29], tal como se verá más adelante. Si se acepta que la fusión del polímero se debe únicamente a las zonas cristalinas, puede considerarse que la cristalinidad puede expresarse como el cociente del calor de fusión de la muestra, ΔH , respecto al calor de fusión del polímero si fuera totalmente cristalino, ΔH_c (Ec.8.1).

$$\chi = \frac{\Delta H}{\Delta H_c}$$

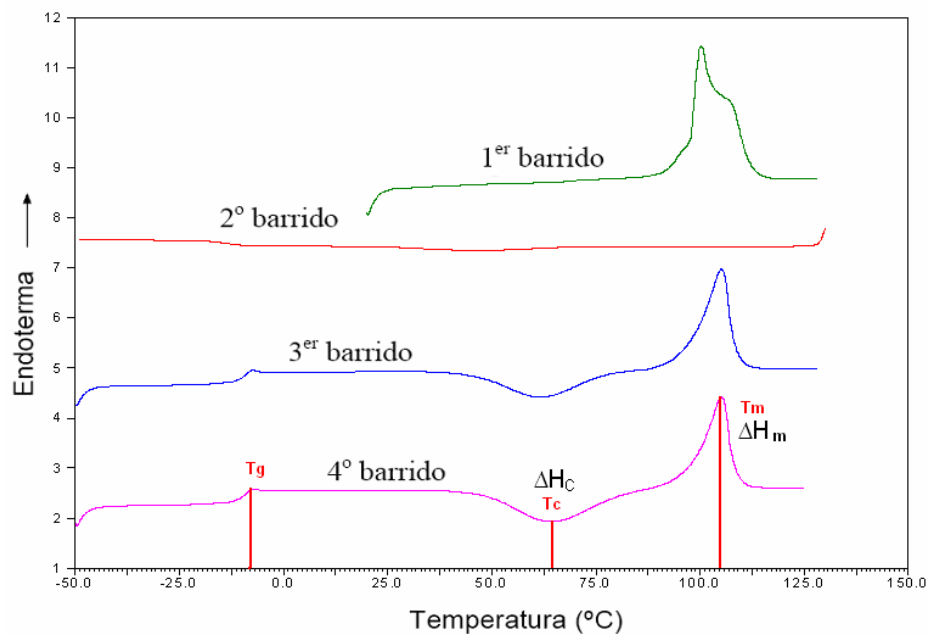


Figura 8.5. Gráfico de los termogramas DSC recogidos para poli(p-dioxanona) comercial Monoplus® sin tratar.

Muestras sin degradar. En la figura 8.6 se comparan las propiedades térmicas de las muestras de hilo de PDO virgen, decolorada y cargadas con triclosan, antes de su degradación. Se representa el 4º barrido (3r calentamiento), donde aparecen la transición vítrea, el proceso de cristalización (exotérmico) y el de fusión (endotérmico). Si la cristalización no se aprecia en la curva, en la tabla 8.9 se mostrarán los datos del primer enfriamiento (2º barrido) con un (*), donde sí se registra la cristalización.

El hecho más destacado en la figura 8.7 es la ausencia de cristalización en frío del hilo decolorado. Esto se debe a que el hilo ha cristalizado durante el enfriamiento previo. En contraste, los hilos cargados con ibuprofeno o colorante, sí cristalizan en el 3r calentamiento. Creemos que en los hilos cargados, las sustancias de bajo peso molecular inhiben la cristalización en caliente. El colorante y el triclosan actúan de forma distinta; el hilo con el primero cristaliza sobre los 51°C, en tanto que el virgen lo hace sobre 64°C. Las temperaturas de transición vítrea (T_g) dependen del contenido químico del polímero. El hilo decolorado tiene menor T_g que el virgen, y la serie que contiene triclosan tiene T_g



prácticamente iguales a la del virgen. Si comparamos las temperaturas de cristalización (T_c) en la serie del triclosan, vemos que hay una cierta variación con su contenido en antimicrobiano. No se aprecian cambios significativos en las temperaturas de fusión (T_f) del polímero.

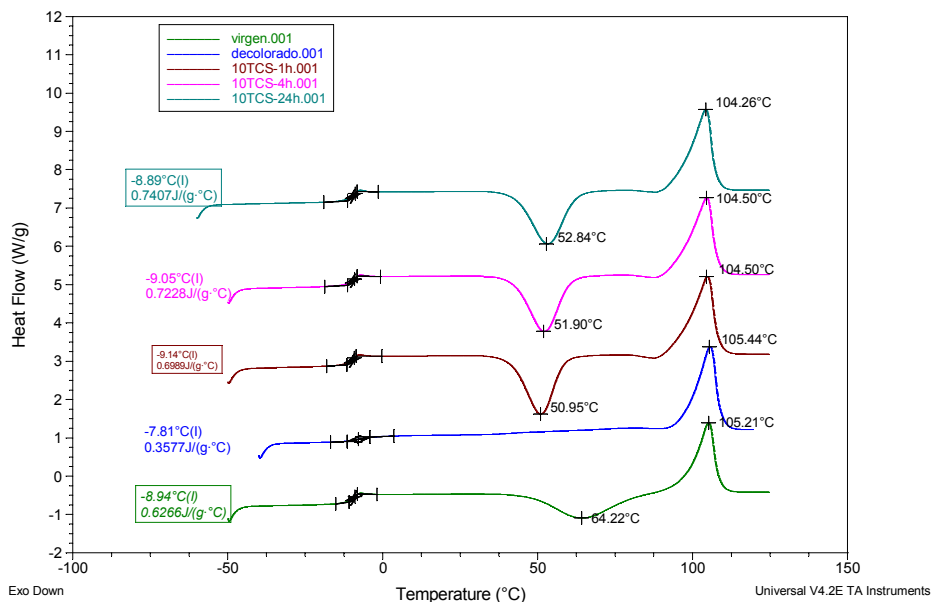


Figura 8.6. Comparativa de DSC de los hilos de referencia con los que contienen triclosan

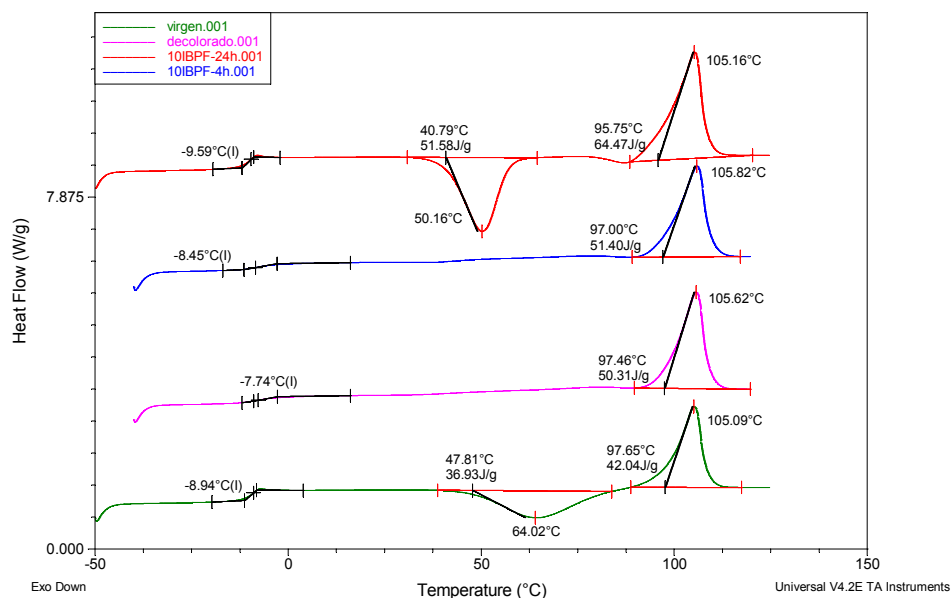


Figura 8.7. Comparativa de DSC patrón con los de poli(p-dioxanona) con ibuprofeno

En cuanto a la influencia de ibuprofeno en la matriz polimérica, figura 8.7, vemos que las T_g vuelven a aumentar con el contenido en fármaco. En cuanto a las T_c observamos un hecho análogo al ya comentado para el triclosan, con la diferencia de que hilos con contenido de ibuprofeno bajo se comportan como el decolorado. Posiblemente, el menor



tamaño del ibuprofeno en relación al triclosan es la causa de esta diferencia. De nuevo, las T_f no reflejan que haya un aditivo químico en el interior del hilo.

Como resumen, presentamos la relación de valores numéricos de las propiedades térmicas de las muestras sin degradar:

Muestras sin degradar	Virgen	NO color	10%TCS 24L	10%TCS 04L	10%TCS 01L	10%IBF24L	10%IBF 04L
T_g (°C)	-8,94	-7,74	-8,89	-9,05	-9,14	-9,59	-8,45
$T_{cristaliz}$ (°C)	64,02	69,5(*)	53,20	52,08	50,88	50,16	67,91(*)
$\Delta H_{cristaliz}$ (J·g ⁻¹)	36,93	59,26(*)	52,14	50,29	50,38	51,58	55,92(*)
$T_{fusión}$ (°C)	105,09	105,62	104,16	104,43	104,69	105,16	105,82
$\Delta H_{fusión}$ (J·g ⁻¹)	42,04	50,31	53,87	54,58	55,66	64,47	51,40

Tabla 8.9. Datos obtenidos según DSC de muestras de PDO en degradación hidrolítica.

Muestras degradadas.

Se estudiaron muestras de tres series: 1) hilos decolorados durante 24 horas, hilos cargados durante 24h con 2) triclosan al 10% y 3) ibuprofeno al 10%. Se presentan sus temperaturas de transición vítrea (T_g), de cristalización (T_c) y de fusión (T_f) en función del tiempo de degradación, en las figuras 8.8 a 8.10:

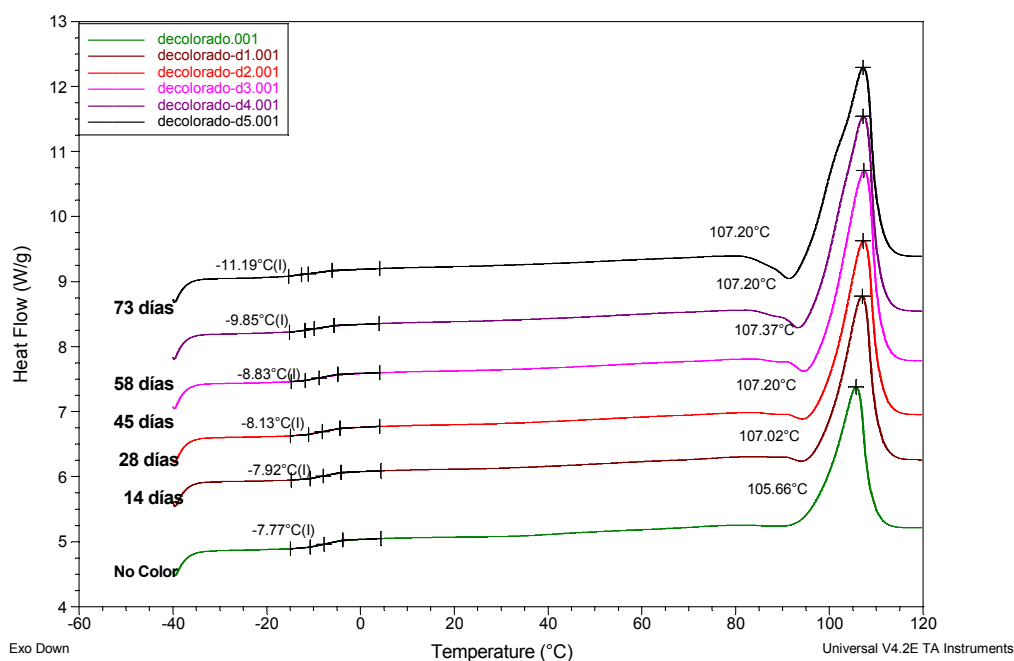


Figura 8.8. DSC de poli(p-dioxanona) decolorada en función del tiempo de hidrólisis. 3r calentamiento.

La serie correspondiente al polímero decolorado nos muestra los parámetros calorimétricos de la PDO pura, sin aditivos. Observamos que el descenso de Mw desde 300.000 hasta



50.000 no afecta prácticamente a la T_f del polímero. En contraste, sí varían las T_g , que descienden unos 3'5°C.

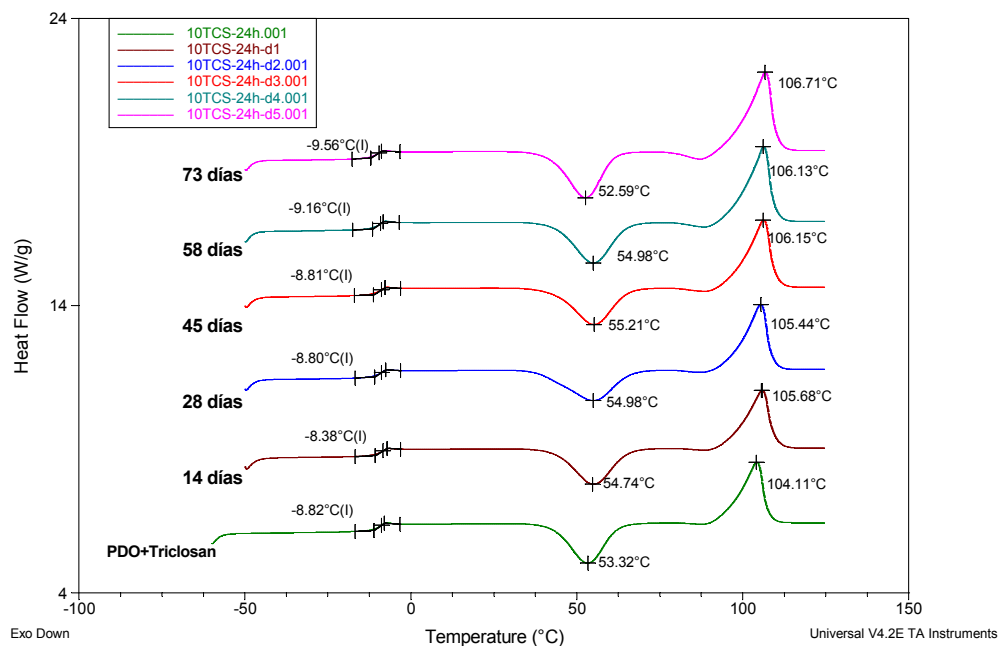


Figura 8.9. Comparativa de las DSC de la serie degradativa poli(p-dioxanona) con triclosan.

En la serie de hilos con triclosan, T_g , T_c y T_f muestran variaciones mínimas y no significativas con la degradación. El hecho más relevante es la existencia de T_c en las muestras muy degradadas. Dado el tiempo que han permanecido en el medio acuoso, su contenido en triclosan debe ser muy bajo, y el termograma debería ser análogo al de PDO decolorado.

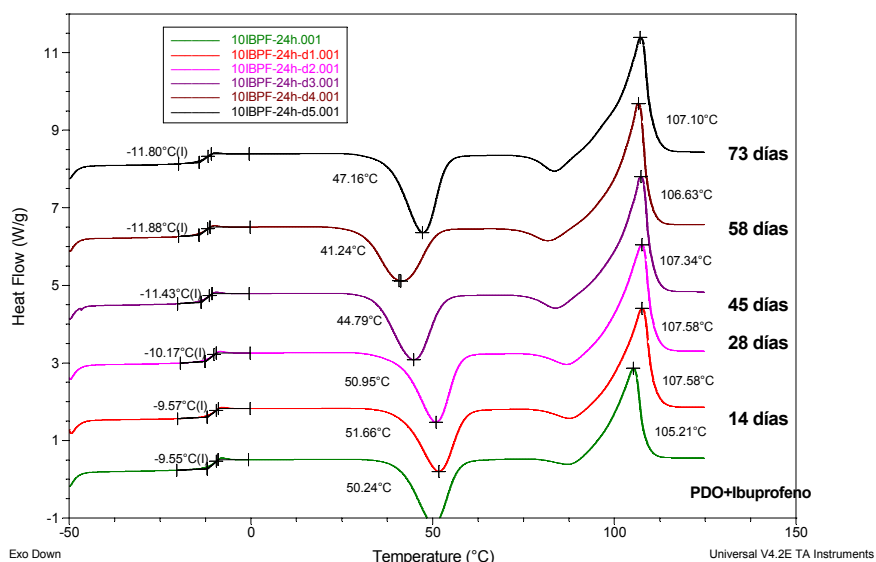


Figura 8.10. Comparativa de las DSC de la serie degradativa poli(p-dioxanona) con ibuprofeno.



En la serie con ibuprofeno encontramos un comportamiento similar al ya comentado para la serie con triclosan. De nuevo, el hecho más destacado es la cristalización de la muestra muy degradada.

Se presenta a continuación una tabla resumen, con los datos numéricos correspondientes a los hilos degradados hidrolíticamente a 37°C (tabla 8.10):

Experimentos a 37°C		0	1	2	3	4	5
Tiempo transcurrido (días)		0	14	28	45	58	73
NOcolor	T _g (°C)	-7,77	-7,92	-8,13	-8,83	-9,85	-11,19
	T _{cristaliz} (°C) (*)	69,5	73,29	74,15	75,61	75,88	76,67
	$\Delta H_{cristaliz}$ (*) (J·g ⁻¹)	59,26	63,49	66,16	72,48	75,95	77,36
	T _{fusión} (°C)	105,66	107,02	107,20	107,37	107,20	107,20
	$\Delta H_{fusión}$ (J·g ⁻¹)	50,31	56,80	63,31	72,23	81,23	88,36
10%TCS24L	T _g (°C)	-8,82	-8,38	-8,80	-8,81	-9,16	-9,56
	T _{cristaliz} (°C)	53,32	54,74	54,98	55,21	54,98	52,59
	$\Delta H_{cristaliz}$ (J·g ⁻¹)	52,02	51,38	52,87	54,16	57,22	58,93
	T _{fusión} (°C)	104,11	105,68	105,44	106,15	106,13	106,71
	$\Delta H_{fusión}$ (J·g ⁻¹)	53,96	54,65	59,93	63,60	70,64	81,95
10%IBF24L	T _g (°C)	-9,55	-9,57	-10,17	-11,43	-11,88	-11,80
	T _{cristaliz} (°C)	50,24	51,66	50,95	44,79	41,24	47,6
	$\Delta H_{cristaliz}$ (J·g ⁻¹)	52,75	54,70	58,44	60,20	55,23	62,41
	T _{fusión} (°C)	105,21	107,58	107,58	107,34	106,63	107,10
	$\Delta H_{fusión}$ (J·g ⁻¹)	64,93	77,51	85,88	96,03	98,48	102,20

Tabla 8.10. Datos obtenidos según DSC de muestras de PDO en degradación hidrolítica. 4º barrido (3r calentamiento) a 20°C/min.

La tabla 8.10 muestra un aumento progresivo de las $\Delta H_{cristaliz}$ y $\Delta H_{fusión}$ a medida que avanza el tiempo. Esto evidencia el hecho de que las zonas amorfas han sido atacadas preferentemente en los 73 días de hidrólisis.

CRISTALINIDAD a 37 y 50°C.

$$\chi = \frac{\Delta H}{\Delta H_c}$$

También estudiamos únicamente tres series: las muestras decoloradas y las que contienen mayor cantidad de fármacos. En este caso trabajaremos con los termogramas correspondientes al primer calentamiento para obtener el calor de fusión experimental (ΔH). El calor de fusión del material totalmente cristalino (ΔH_c) se calcula según teoría de contribuciones de grupo: puede estimarse si se conoce su fórmula química



$(-[O(CH_2)_2OCH_2CO]_n-)$. Se considera que cada uno de los grupos que forma el polímero contribuye con un determinado calor de fusión. Para obtener el calor de fusión total sólo hay que sumar los calores de fusión que aporta cada uno de los grupos (un grupo éster, dos éter, y tres metilos) del monómero. Operando así, obtenemos un valor de $\Delta H_c = 20,5 KJ/mol$. En las conversiones de unidades se utilizó un peso molecular de 102,1 g/mol.

Experimentos a 37°C		0	1	2	3	4	5
Tiempo transcurrido (días)		0	14	28	45	58	73
NOcolor	$\Delta H_{fusion} (J \cdot g^{-1})$	81,79	82,12	88,33	91,00	91,24	91,88
	$\chi (\%)$	40,74	40,90	43,99	45,32	45,44	45,76
10%TCS24L	$\Delta H_{fusion} (J \cdot g^{-1})$	84,77	85,71	85,86	85,87	88,95	89,27
	$\chi (\%)$	42,22	42,69	42,76	42,77	44,30	44,46
10%IBF24L	$\Delta H_{fusion} (J \cdot g^{-1})$	84,72	80,77	89,44	92,83	99,66	100,40
	$\chi (\%)$	42,19	40,23	44,55	46,23	49,64	50,00

Tabla 8.11. Propiedades térmicas según los termogramas DSC de muestras de PDO en degradación hidrolítica. Primer calentamiento a 20°C/min.

En la experiencia a 37°C, las muestras prácticamente no pierden peso, y muestran un ligero aumento de cristalinidad. La muestra con ibuprofeno, de mayor aumento de cristalinidad, es la que perdió un 5% de peso, correspondiente a las zonas amorfas.

Así, nuestros datos coinciden con los de Li *et al.* [16], quienes describen que la estructura cristalina se mantiene prácticamente intacta hasta los 90 días. Ya pasados los 120 días, observaron una disminución de la temperatura y del calor de fusión, debido a una pérdida considerable de material cristalino.

En las figuras 8.11 y 8.12 se representan los termogramas correspondientes al primer calentamiento, donde se refleja la historia térmica del material de sutura degradado. El doble pico indica de la existencia de poblaciones de lamelas con distinto grosor. En la degradación a 37°C el doble pico se mantiene hasta la 6ª semana, a partir de la cual aparece un solo pico. En el trabajo de Sabino *et al* [4] también se indica la existencia de dos picos en el primer barrido que convergen a uno conforme avanza la degradación. A 50°C, sólo los barridos de los hilos sin degradar muestran este doble pico, ya que a los 22 días las suturas sólo presentan uno.



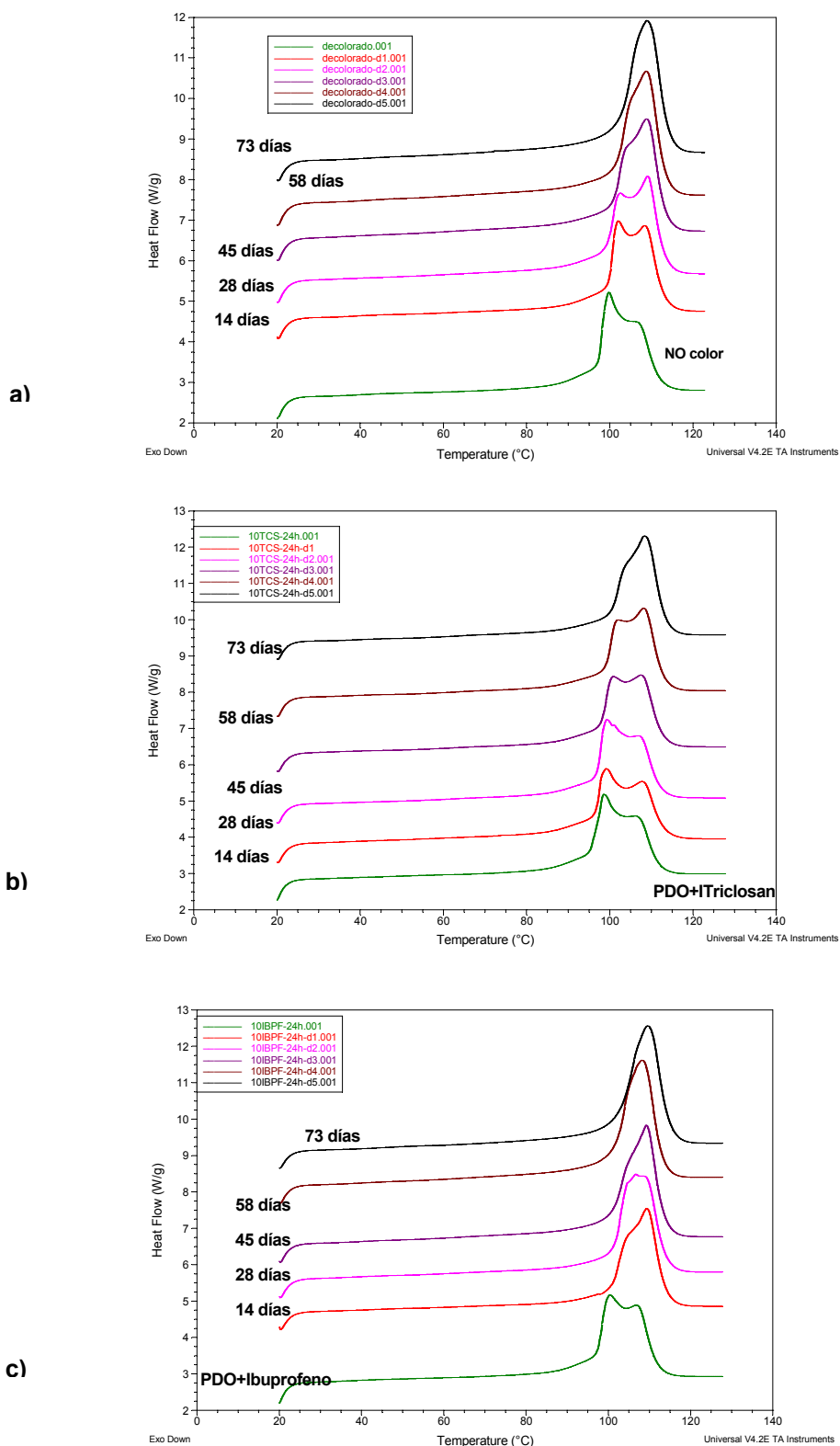


Figura 8.11. DSC de primeros calentamientos a 20°C/min de: (a) muestras decoloradas; (b) muestras con triclosan; (c) muestras con ibuprofeno, todas degradadas a 37°C.



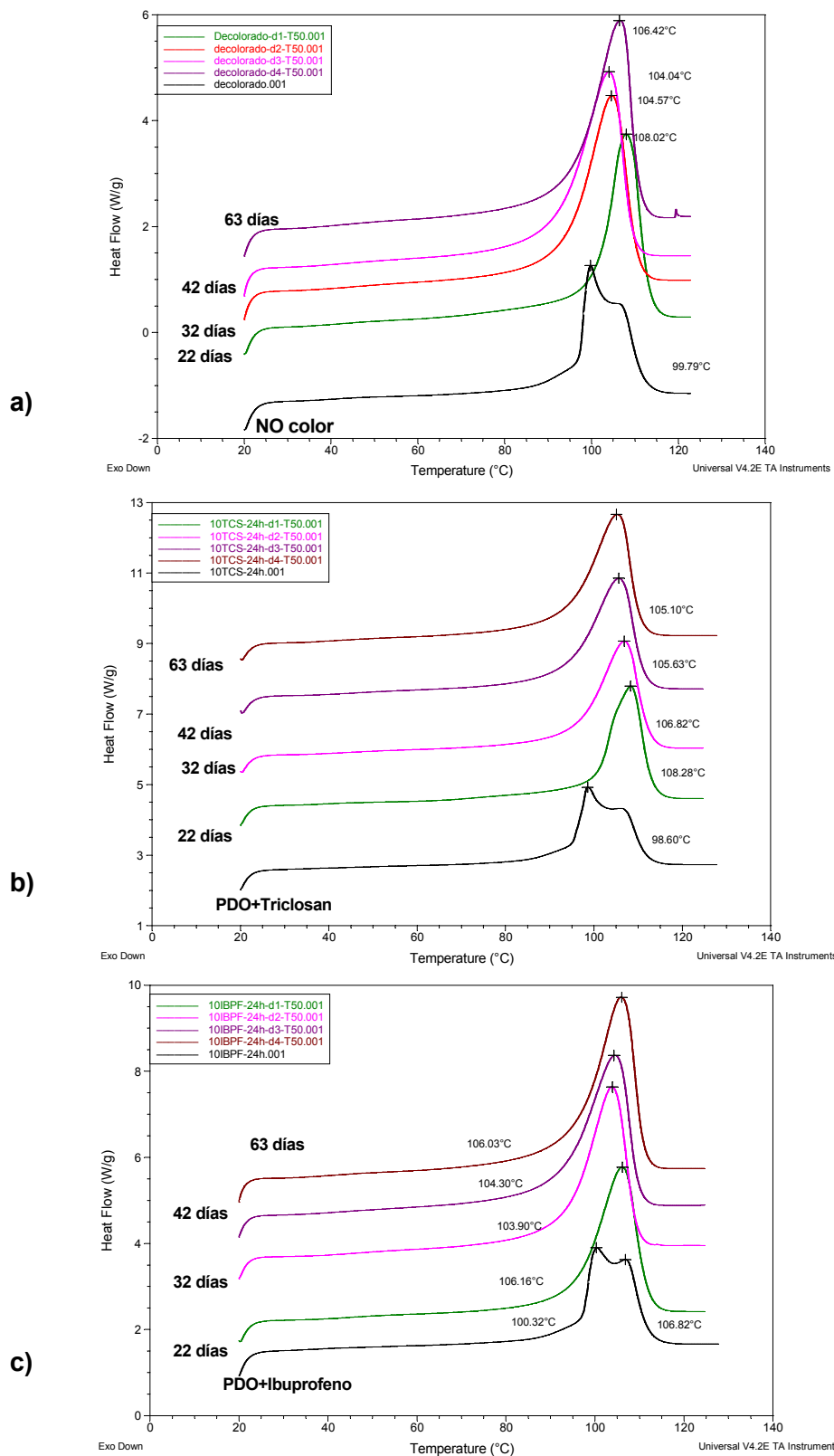


Figura 8.12. Evolución de los termogramas DSC de la degradación de poli(*p*-dioxanona) a 50°C: (a) decolorada; (b) con triclosan y (c) con ibuprofeno. Primeros calentamientos a 20°C/min.



Experimentos a 50°C		0	1	2	3	4
Tiempo transcurrido (días)		0	22	32	42	53
NOcolor	$\Delta H_{fusion} (J \cdot g^{-1})$	81,87	99,78	123,40	130,4	129,5
	χ (%)	40,78	49,70	61,46	64,95	64,50
10%TCS24L	$\Delta H_{fusion} (J \cdot g^{-1})$	83,88	90,42	102,80	114,10	124,20
	χ (%)	41,78	45,03	51,20	56,83	61,86
10%IBF24L	$\Delta H_{fusion} (J \cdot g^{-1})$	83,14	111,30	124,10	126,30	137,90
	χ (%)	41,41	55,43	61,81	62,90	68,68

Tabla 8.12. Propiedades térmicas según los termogramas DSC de muestras de PDO en degradación hidrolítica. Primer calentamiento a 20°C/min.

En la tabla 8.12 se muestran las cristalinidades de los hilos degradados a 50°C. Las evoluciones de NOcolor y 10%TCS24L son casi idénticas, y la del ibuprofeno es la que más aumenta.

Por último, hemos representado gráficamente las evoluciones de las cristalinidades a las dos temperaturas estudiadas. Vemos que las pendientes a 50°C indican un mayor aumento de cristalinidad que a 37°C, que se corresponde con una elevada velocidad de degradación. A ambas temperaturas, las pendientes más acusadas a las muestras con ibuprofeno, seguidas de las decoloradas, y los aumentos menores son los de triclosan.

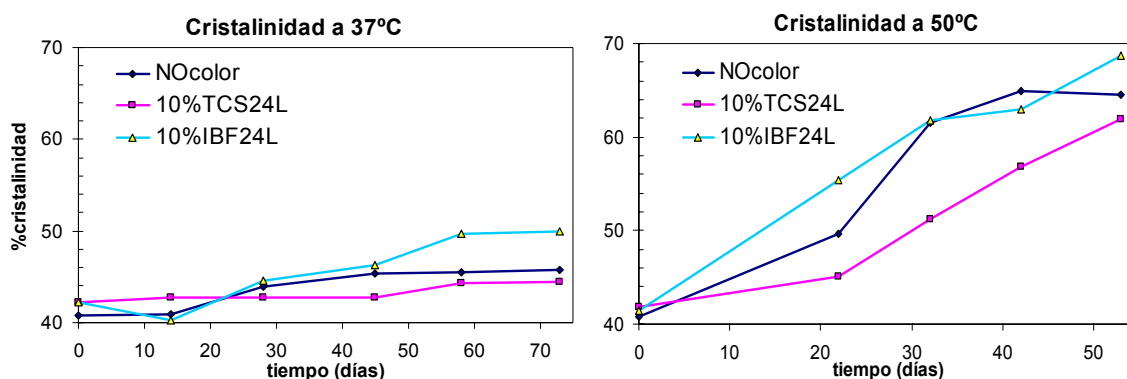


Figura 8.13. Gráfica de la evolución sufrida por las cristalinidades de muestras de PDO ensayadas a (izqda) 37°C y (drcha) 50°C.



9 IMPACTO AMBIENTAL

En primer lugar se analizará el impacto que supone la utilización de los polímeros objeto de este estudio y, en segundo lugar, se analizará el impacto ambiental derivado del proceso seguido para llevar a cabo este Proyecto, lo que incluye, entre otras cosas, el trabajo realizado en el laboratorio.

9.1. Impacto ambiental de los polímeros

Se estima que el 45% del total de materiales utilizados en el área de la medicina corresponden a materiales plásticos. A lo largo del siglo, los avances en la ciencia y la investigación se han consolidado en la utilización de materiales ingenieriles poliméricos. El uso de implantes ortopédicos de acero inoxidable representó una de las primeras experiencias con éxito en el uso clínico. Más adelante se abrieron paso las aleaciones de Titanio, los materiales cerámicos, las aplicaciones odontológicas, todo el material médico a esterilizar se reemplazó por otro de plástico, desechable y estéril, etc. Algunos plásticos comunes, como el polietileno (HDPE y LDPE), el PVC, polipropileno (PP) y poliestireno (PS) constituyen más del 80% de estos plásticos.

Sin embargo, cabe comentar que la implantación médica es en el organismo, y al ser sintéticos pero biodegradables (y no dejar residuos tóxicos), su eliminación se resume en dos. Una biodegradabilidad parcial, que corresponde a una alteración en la estructura química y a una pérdida de propiedades específicas, y la biodegradabilidad total, que se asocia a la mineralización completa, agua, sales minerales y biomasa, aunque en algunos casos pueden quedar fragmentos (oligómeros) resistentes a la degradación.

9.2. Impacto ambiental de la realización del Proyecto

La realización de este Proyecto ha supuesto llevar a cabo un conjunto de operaciones y utilizar ciertos elementos que tienen asociado un cierto impacto ambiental.



9.2.1. Ensayos con polímeros

El mayor impacto ambiental se debe directamente a la preparación de todas las muestras y su posterior análisis en cromatógrafo (principalmente el HPLC, pues la fase móvil del GPC se destila y reutiliza en gran medida).

- **Emisión de gases:** de las campanas extractoras se producen emisiones gaseosas a la atmósfera.
- **Eliminación de residuos líquidos:** el principal impacto proviene, mayoritariamente, de los disolventes. Son separados en residuos clorados y no clorados, y entregados posteriormente a una empresa que se encarga de su tratamiento.

9.2.2. Equipos y material diverso

Los equipos empleados en la realización de este proyecto conllevan una serie de impactos ambientales indirectos, debidos principalmente a:

- **Elaboración y funcionamiento:** consumo de recursos materiales y energéticos, construcción de instalaciones, explotación de las mismas, almacenamiento, refrigeración, estufas...

- **Transporte:** se lleva a cabo mediante la utilización de combustibles fósiles, que tienen un impacto muy negativo por emisiones de partículas, dióxido de carbono,...

- **Deposición:** una vez finalizada su vida útil, los equipos son depositados en vertederos tras un tratamiento previo para reducir su impacto. Los residuos de plástico o vidrio que puedan ser recuperados se depositan en contenedores específicos para posterior reciclado.

El material de oficina (impresoras, ordenadores, papel, fotocopidora...) tiene impactos análogos al del material de laboratorio. Plástico y papel fueron depositados en contenedores adecuados para favorecer el reciclado.

9.2.3. Servicios generales

La realización de cualquier trabajo implica un gasto de servicios generales, por lo general no renovables, que debe ser mencionado. Se destacan principalmente los siguientes servicios:

- **Electricidad:** generada en su mayoría mediante combustibles fósiles. Entraña un impacto muy grande debido a las instalaciones, a la explotación y a la distribución.



- **Agua:** es un recurso cada vez más valioso, empleado como disolvente, refrigerante,... Comporta una serie de impactos por las instalaciones de distribución, su tratamiento posterior, vertidos, etc.

- **Aire acondicionado y calefacción:** utilizados para mantener las condiciones de temperatura de los ensayos de cristalización. Conllevan pequeñas emisiones de refrigerantes y partículas, gastos de electricidad elevados, consumo de recursos, etc.



10 EVALUACIÓN ECONÓMICA DEL PROYECTO

Realizar la evaluación económica de un proyecto de investigación no es tarea fácil, puesto que no hay ingresos efectivos y los gastos suelen ser cuantiosos. Dividiremos el coste global de la realización del proyecto en tres grandes partidas: coste de materiales y productos, coste de equipos y coste de personal.

10.1. Coste de materiales y productos

Los costes de los **disolventes** y de los productos necesarios para la elaboración de medios de liberación (tampones) y fase móvil para el HPLC se detallan en la tabla 10.1. Pese a que algunos productos como el Hexafluoroisopropanol (fase móvil del GPC) tengan un precio muy elevado, la cantidad utilizada se destila al final del experimento y se reutiliza. El coste considerado será el volumen desechado en cabeza y cola, que según nuestros cálculos representan un 25% del volumen utilizado (4 litros). Los precios de estos disolventes, así como de los **productos químicos** requeridos, se han obtenido de los catálogos de las empresas suministradoras.

Disolventes y productos				
Disolventes	cantidad lote	precio (€)	unidades	coste (€)
Acetonitrilo	2500 ml	57,70	6,00	346,20
Ácido acético glacial	1000 ml	27,10	1,00	27,10
Diclorometano	2500 ml	31,36	1,00	31,36
Hexafluoroisopropanol	1000 ml	300,00	1	300,00
Productos Químicos	precio (€)/unidad		uso	coste (€)
Triclosan/Irgasan	23,00		0,75	17,25
Ibuprofeno	96,20		0,25	24,05
Suturas comerciales de poli(p-dioxanona)	Gratis		45 paquetes	0,00
	Inversión Anual (€)		consumo	coste (€)
Resto de prod. Químicos y disolventes	3.500,00		5%	175,00
Coste total de disolventes y productos				920,96

Tabla 10.1. Desglose del coste de materiales y productos.



10.2. Coste de personal

Para el cálculo de este coste se ha dividido el proyecto en cuatro grandes fases: estudio previo, experimentación, análisis de resultados y documentación. Cada una de estas fases correspondería al trabajo de personal con un distinto nivel de formación, y por lo tanto, con un precio por hora diferente.

Sabiendo la duración de cada fase y un precio por hora de trabajo para cada fase, puede estimarse el coste derivado del personal para este proyecto. Los resultados del cálculo se recogen en la tabla 10.2.

Personal			
<i>Fase</i>	<i>duración (horas)</i>	<i>sueldo (€/hora)</i>	<i>coste (€)</i>
Estudio previo	35	30	1.050,00
Experimentación	350	15	5.250,00
Análisis de resultados	75	40	3.000,00
Documentación	60	30	1.800,00
Coste total de personal			11.100,00

Tabla 10.2. Desglose del coste de personal.

10.3. Coste de equipos

Es el derivado de la utilización de equipos a lo largo de la investigación. El gasto en cada aparato se calcula a partir del precio del equipo, su periodo de amortización y el tiempo durante el cual se ha utilizado (10 meses como media general). También se dividirá entre el número de personas que durante ese periodo de tiempo lo han estado usando. Los resultados se recogen en la tabla 10.3:

Equipos				
<i>Aparato</i>	<i>precio (€)</i>	<i>tasa amortización (años)</i>	<i>nº personas</i>	<i>coste (€)</i>
Calorímetro	22.135,00	10	12	153,72
Cromatógrafos				0
Balanzas	1.500,00	5	20	12,50
pHmetro	480,00	5	20	4,00
Microscopio electrónico	80,00		3	240,00
Coste total de equipos				410,22

Tabla 10.3. Desglose del coste de equipos.



Los cromatógrafos (HPLC y GPC) se compraron hace más de diez de años, por lo que ya se consideran amortizados y sólo se tendrán en cuenta el coste de los disolventes.

El microscopio electrónico de barrido no pertenece al Departamento de Ingeniería Química. Por lo tanto, al ser un coste externo y totalmente variable, se ha calculado utilizando el precio por análisis realizado.

10.4. Coste total del proyecto

El coste final del proyecto se calcula sumando cada coste. Hay que añadir dos partidas más, la primera debida a gastos generales de laboratorio (electricidad, agua, material básico de laboratorio, material de oficina, etc.) y la segunda debida al *overhead* de la UPC. El *overhead* incluye toda una serie de gastos indirectos, como el mantenimiento de las instalaciones, alquiler, suministros,... debidos a la realización del proyecto en la UPC.

Ambas partidas se estiman como un 10% de la suma de los costes de personal, equipos y productos. En la tabla 10.4 se muestran los cálculos para el coste final.

Total del Proyecto	
<i>Partida</i>	<i>Coste (€)</i>
Coste de disolventes y productos	920,96
Coste de personal	11.100,00
Coste de equipos	410,22
<i>Subtotal</i>	13.652,16
10% gastos generales	1.365,22
10% <i>overhead</i> UPC	1.365,22
<u>Coste total del proyecto</u>	<u>14.917,41</u>

Tabla 10.4. Desglose del coste del proyecto.

De este modo, el coste final del proyecto, sumando todos los gastos anteriores, se calcula en **14.917,41 €**.



11 Conclusiones

El objetivo general de este Proyecto Final de Carrera era el desarrollo de hilos de sutura monofilares cargados con un antibacteriano. La novedad introducida en este trabajo es que la poli(p-dioxanona), por ser monofilar, se comercializa sin recubrimiento. A lo largo de su desarrollo también nos planteamos verificar si una sustancia química introducida en el hilo influía, y cómo, en la degradación del polímero. Una vez finalizado el trabajo, los resultados obtenidos permiten extraer las siguientes conclusiones:

- 1) De entre los disolventes posibles para el antibacteriano triclosan, el diclorometano resultó el más idóneo para cargar el fármaco en la matriz polimérica mediante difusión. El hinchamiento de las suturas en este disolvente permite la entrada del fármaco y la salida simultánea del colorante violeta hacia el exterior.
- 2) Variando la concentración de la solución de carga y el tiempo de inmersión del hilo, es factible incorporar cantidades diversas de fármacos a la sutura.
- 3) Se ha determinado la cantidad de fármaco incorporado en los hilos. Los valores hallados son proporcionales a la concentración del baño de carga y a los tiempos de contacto. A mayor porcentaje de triclosan en la disolución, más cantidad de biocida se incorpora.
- 4) Se han obtenido las curvas de liberación de triclosan a partir del hilo en dos medios de distinta hidrofiliidad. Se encontró que la cantidad de biocida liberada es un porcentaje del contenido total de antimicrobiano en el hilo.
- 5) La naturaleza del medio influye en la liberación. En el medio menos hidrófilo, Sörensen-etanol [75:25], la cantidad liberada fue mayor que en otro más polar, Sörensen 100%.
- 6) Las cinéticas de carga y liberación se ajustaron a modelos matemáticos. Los procesos de incorporación se rigen por el modelo de Higuchi, en tanto que las liberaciones siguen cinéticas de primer orden. Los coeficientes de correlación y las constantes de velocidad de liberación (k), fueron el criterio usado para seleccionar entre los distintos modelos.
- 7) Se ha conseguido incorporar triclosan mediante tres tipos de recubrimiento en hilos monofilares de poli(p-dioxanona). Utilizando la microscopía electrónica se ha comprobado la homogeneidad de estos recubrimientos.



- 8) Se han obtenido las curvas de liberación del fármaco cargado en los recubrimientos. Utilizando el HPLC, los resultados en Sörensen-etanol indican que el recubrimiento más eficiente es el de policaprolactona pura.
- 9) Valores similares de carga y liberación de triclosan pueden conseguirse tanto por el método de carga en el interior como por el de recubrimiento. No obstante, concluimos que la carga en el recubrimiento es más conveniente, por emplear menos tiempo en su elaboración, circunstancia importante en una producción industrial.
- 10) Los compuestos Triclosan e Ibuprofeno ejercen un efecto significativo en la degradación hidrolítica en los hilos de PDO. El ibuprofeno acelera el proceso de degradación, en tanto que el triclosan la retrasa. El efecto del ibuprofeno se debe al grupo carboxilo, que cataliza la hidrólisis de los enlaces éster. El efecto contrario del triclosan posiblemente se deba a su carácter hidrófobo.
- 11) La eliminación del colorante en el hilo mediante diclorometano provoca una aceleración en la degradación de éste. Posiblemente este hecho se deba a la no recuperación de la compacidad inicial de la sutura tras el proceso de decoloración. En consecuencia, el medio acuoso accede con mayor facilidad a los enlaces éster.
- 12) Se ha detectado un descenso del peso molecular del polímero tras los procesos de decoloración o carga del fármaco. Esta disminución en Mw es función del fármaco cargado y del tiempo de almacenamiento del hilo.



Futuras líneas de investigación

Los sistemas poliméricos de liberación de fármacos, cargados en su interior o bien por recubrimiento, tienen un uso potencial importante en el campo de la medicina. Una vez finalizado este PFC queremos enumerar algunos de sus aspectos cuyo estudio sería interesante continuar en el futuro:

- Dado que la carga interior de la matriz polimérica se libera por difusión, según cinéticas descritas, beneficiosas para un post-operatorio, sería conveniente desarrollar un método destinado a producir estos sistemas polímero-fármaco en una extrusora. Este método permitiría incorporar cantidades exactas de droga, sin variabilidad ni procesos costosos en tiempo y dinero, según un simple proceso de fusión, mezcla conjunta, e hilado.
- Teniendo en cuenta que existen trabajos de investigación que tratan sobre la acción de aditivos en la degradación polimérica, se debería completar el estudio aquí desarrollado, en particular los factores que cambian el peso molecular del polímero ante la degradación.
- La acción del colorante violeta cristal, un compuesto salino, no queda perfectamente clara en este trabajo, puesto que los resultados se hallan condicionados por el proceso de decoloración. Para clarificar este punto, se podría realizar un trabajo de suturas que incorporen cantidades diferentes de colorante.
- Los recubrimientos de hilos monofilares desarrollados en este trabajo permiten la incorporación de fármacos a estas suturas. Este trabajo es un punto de partida para otros proyectos en los que los recubrimientos contengan otros polímeros y copolímeros.





12 Agradecimientos

En primer lugar, debo decir que me introduje en la investigación de polímeros biodegradables gracias a la concesión de una beca del Programa de Formación en Departamentos, de la mano del Dr. Alfonso Rodríguez Galán. Colaboré con Raúl Zurita, futuro Doctor, quien me enseñó muchas de las técnicas empleadas en el actual PFC. Finalizada la beca, Alfonso me ofreció un Proyecto Final de Carrera en el departamento de Ingeniería Química y todos los consejos que necesité.

Igualmente quiero agradecer al Dr. Jordi Puiggalí el haberme dado la oportunidad de realizar este Proyecto, y también a la Dra. Lourdes Franco por la realización de calorimetrías y ayudarme en el análisis térmico de las muestras poliméricas. No puedo olvidar la paciencia de la futura Dra. Meritxell Martínez en su enseñanza del software interpretativo de diversas técnicas. No quiero olvidar a todos los profesionales que han sido auténticos compañeros en el departamento, y a aquellos/as que han pasado por él durante los dos años que participé en su actividad, y que la hicieron más llevadera. Algunas de ellas me han acompañado a lo largo de la carrera, y son y serán siempre muy buenas amigas. Las inyecciones de moral y paciencia han sido necesarias en la culminación de esta carrera, y sin duda Alicia, Élida, Icíar, Mireia y Raquel saben de lo que hablo. Muchas muchas gracias.

Por último quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi familia (mi padre, mi hermano, y a mi madre –de verdad, *espero que me estés viendo*–), por su cariño y apoyo. Este PFC me llevará a Córdoba, donde mi novio, mi próxima familia, se ha ganado el cielo. Todo lo conseguido se lo debo a ellos: por ese motivo, les dedico este proyecto.



13 Bibliografía

13.1. Referencias bibliográficas

- [1] ZURITA R., PUIGGALÍ J., FRANCO L., RODRÍGUEZ-GALÁN A. *Copolymerization of glycolide and trimethylene carbonate*. Journal of Polymer Science, **vol. 44**, p.993-1013 (2006).
- [2] ZURITA R., PUIGGALÍ J., RODRÍGUEZ-GALÁN A. *Loading and release of Ibuprofen in Multi- and Monofilament Surgical Sutures*. Macromol. Bioscience **6**, p.767-775 (2006).
- [3] NISHIDA, H.; YAMASHITA, M.; ENDO, T.; NAGASHIMA, M. (2000). *Synthesis of metal-free poly(1,4-dioxan-2-one) by enzyme-catalyzed ring-opening polymerization*. Journal of Polymer Science, **vol. 38**, p. 1560-1567 (2000).
- [4] SABINO M., GONZÁLEZ S., MÁRQUEZ L., FEIJOO J.L. *Study of the hydrolytic degradation of polydioxanone (PPDX)*. Polym. Deg. Stab. **69**, p. 209-216 (2000).
- [5] SABINO M.A., ALBUERNE J., MÜLLER A.J., BRISSON J., PRUD'HOMME R.E. *Influence of in Vitro Hydrolytic Degradation on the Morphology and Crystallization Behavior of Poly(p-dioxanone)*. Biomacromolecules, **Vol. 5**, No. 2 (2004).
- [6] SABINO M., MORALES M., RONCA G., FEIJOO J. L. *Estudio de la degradación hidrolítica de un copolímero biodegradable*. ACV. Print ISSN 0001-5504, **vol.54** no.1 (2003).
- [7] IM J.N, KIM J.K, KIM H.K, IN C.H, LEE K.Y, PARK W.H. *In vitro and in vivo degradation behaviors of synthetic absorbable bicomponent monofilament suture prepared with poly(p-dioxanone) and its copolymer*. Polymer Degradation and Stability, vol 92, issue 4, p. 667-674 (2007).
- [8] PFC de SERGIO GÁMEZ GALINDO. *Estudio de la degradación de suturas bioabsorbibles monofilamento*. Departamento Ing. Química Pab. G, E.T.S.E.I.B (UPC). Junio 2004 (Plan 96).
- [9] GONZÁLEZ M.A., MORENO S., MAYA Z., ROMERO M. *Polidioxanona vs seda en herniorrafia inguinal con técnica de McVay*. Rev Fac Med UNAM **Vol.44 No.6** (2001).
- [10] ALEXIS F. *Factors affecting the degradation and drug-release mechanism of poly(lactic acid) and poly[(lactic acid)-co-(glycolic acid)]*. Polymer International **54**, p. 36-46 (2005).
- [11] KOCKISCH S., REES G., TSIBOUKLIS J., SMART J.D. *Mucoadhesive, triclosan-loaded polymer microspheres for application to the oral cavity: preparation and controlled release characteristics*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **Vol. 59**, 1, p. 207-216 (2005).



- [12] CHUNG D., PAPADAKIS S., YAM K. *Evaluation of a polymer coating containing triclosan as the antimicrobial layer for packaging materials*. International Journal of Food Science and Technology **38**, p- 165-169 (2003).
- [13] COSTA P., SOUSA J.M. *Modeling and comparison of dissolution profiles*. European Journal of Pharmaceutical Sciences **13**, p. 123-133 (2001).
- [14] CORAS B., HOHENLEUTNER U., LANDTHALER M., HONENLEUTNER S. *Comparison of two absorbable monofilament polydioxanone threads in Intradermal Buried Sutures*. Dermatol Surg **31**, p. 331-333 (2005).
- [15] GIUNCHEDI P., CONTI B., SCALIA S., CONTE U. *Controlled Release* **56**, p. 53–62 (1998).
- [16] LI S., GIROD-HOLLAND S., VERT M. *J Controlled Release* **40**, p. 41–53 (1996).
- [17] ZHANG Y., ZALE S., SAWYER L., BERNSTEIN H. *J Biomed Mater Sci* **34**, p. 531–538 (1997).
- [18] BODMEIER R., OH K.H., CHEN H. *Int J Pharma* **51**, p. 1–8 (1989).
- [19] MIYAJIMA M., KOSHIKA A., OKADA J., KUSAI A., IKEDA M. *Int JPharma*, **169**, p. 255–263 (1998).
- [20] MIYAJIMA M., KOSHIKA A., OKADA J., IKEDA M. *J Controlled Release* **60**, p. 199–209 (1999).
- [21] ALEXIS F., RATH S.K., BOEY F.Y.C., VENKATRAMAN S.S. *J Controlled Release* (accepted).
- [22] WADA R., HYON S-H., IKADA, Y. *J Pharma Sci* **79**, p. 919–924 (1990).
- [23] SAMPATH S.S., GARVIN K., ROBINSON D.H. *Int J Pharma* **78**, p.165–174 (1992).
- [24] OKADA H., DOKEN Y., OGAWA Y., TOGUCHI H. *Pharma Res* **11**, p. 1143–1147 (1994).
- [25] GÜMÜSDERELIOD LU M., DENIZ G. *J Biomater Sci, Polym Ed* **11**, p.1039–1050 (2000).
- [26] MIYAJIMA M., KOSHIKA A., OKADA J., KUSAI A., IKEDA M. *Int JPharma*, **169**, p. 255–263 (1998).
- [27] MÄKELÄ P., POHJONEN T., TÖRMÄLÄ P., WARIS T., ASHAMMAKHI N. *Strength retention properties of self-reinforced poly L-lactide (SR-PLLA) sutures compared with polyglyconate (Maxon®) and polydioxanone (PDS) sutures*. Biomaterials, **vol. 23, 12**, p. 2587-2592 (2002).
- [28] CAMERON, R.; OOI C. *The hydrolytic degradation of polydioxanone sutures*. Journal of Biomedical Materials, **vol. 63**, p. 280-290 (2002).



- [29] VAN KREVELEN D.W. *Properties of polymers: their correlation with chemical structure, their numerical estimation and prediction from additive group contribution*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier (1990).
- [30] TOMIHATA K., SUZUKI M., IKADA Y. *The pH dependence of monofilament sutures on hydrolytic degradation*. J Biomed Mater Res (Appl Biomater) **58**, p. 511–518 (2001).
- [31] HONG J.T, CHO N.S, YOON H.S, KIM T.H, KOH M.S, KIM W.G. *Biodegradable studies of Poly(trimetilenecarbonate- ϵ -caprolactone)-block-poly(p-dioxanone), Poly(dioxanone), and Poly(glycolide- ϵ -caprolactone) (Monocryl®) Monofilaments*. Journal of Applied Polymer Science, **vol. 102**, p. 737-743 (2006).

13.2. Bibliografía complementaria

- J. M. G. COWIE. *Polymers: Chemistry & Physics of modern materials*. Blackie Academic & Profesional (1996).
- UWE D. NEUE *HPLC Columns. Theory, Technology, and Practice*. WILEY.VCH (1997).
- PEZZIN A., ALBERDA VAN EKENSTEIN G., DUEK E. *Melt behaviour, cristallinity and morphology of poly(p-dioxanone)*. Polymer, **42**, p. 8303-8306 (2001).
- TOMIHATA K., SUZUKI M., TOMITA N. *Handling characteristics of poly(L-lactide-co- ϵ -caprolactone)*. Bio-Medical Materials and Engineering **15**, p. 381-391 (2005).
- WATANABE T., HE Y., ASAKAWA N., YOSHIE N., INOUE Y. *Hydrogen-bonding interaction between poly(ϵ -caprolactone) and low-molecular-weight amino compounds*. Polym Int, **50**, p. 463-468 (2001).

